



TECHNISCHE
UNIVERSITÄT
DARMSTADT



Physics of
Surfaces

Hochaufgelöste mechanische Charakterisierung von Polymerschichten und Biomolekülen

Vom Fachbereich
Material- und Geowissenschaften
der Technischen Universität Darmstadt

genehmigte
Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)

von
Dipl.- Phys. Agnieszka Maria Voß
aus Malbork

Referent: Prof. Dr. Robert Stark
Korreferent: Prof. Dr. Markus Biesalski

Tag der Einreichung: 9. Oktober 2014
Tag der Prüfung: 24. Februar 2015

Darmstadt 2015

D17

Für Björn

*„Ich habe dich so lieb!
Ich würde dir ohne Bedenken
Eine Kachel aus meinem Ofen
Schenken...“*

Joachim Ringelnatz, 1883-1934

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
1. EINLEITUNG.....	1
1.1. EINFÜHRUNG	1
1.2. ZIEL DER ARBEIT	2
2. GRUNDLAGEN DER RASTERKRAFTMIKROSKOPIE	5
2.1. ALLGEMEINE FUNKTIONSWEISE.....	5
2.2. KRÄFTE ZWISCHEN MESSSPITZE UND PROBE	6
2.3. KRAFTSPEKTROSKOPIE.....	16
2.3.1. <i>Mechanik und Modelle</i>	18
2.4. BETRIEBSARTEN	23
2.4.1. <i>Kinematik statischer Methoden</i>	23
2.4.2. <i>Kinematik dynamischer Methoden</i>	26
2.4.3. <i>Peak-Force-Quantitative-Nanomechanical-Mapping</i>	30
2.5. OBERFLÄCHENRAUIGKEIT	33
2.6. AUFLÖSUNGSVERMÖGEN UND MESSARTEFAKTE	34
3. MATERIALIEN.....	37
3.1. ANTIKÖRPER	37
3.2. POLYPROPYLEN.....	39
3.3. OBERFLÄCHENGEBUNDENE POLYMERE UND PEPTID-POLYMERE	42
3.4. VERWENDETE CHEMIKALIEN UND MESSSONDEN	45
4. METHODEN	47
4.1. PROBENPRÄPARATION	47
4.2. ÄTZVERFAHREN	52
4.3. RASTERKRAFTMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN	53
4.4. DATENAUSWERTUNG.....	56
5. ERGEBNISSE.....	61
5.1. MECHANISCHE EIGENSCHAFTEN VON IGM MIT 10 NM LATERALER AUFLÖSUNG IN FLÜSSIGKEIT	61
5.2. TIEFENAUFGEÖSTE VERMESSUNG DER MECHANISCHEN EIGENSCHAFTEN VON ELASTOMEREM POLYPROPYLEN	70
5.3. CHARAKTERISIERUNG VON STRUKTURIERTEN BIOAKTIVEN POLYMER- UND PEPTID-POLYMER-OBERFLÄCHEN	89
6. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	103
ANHANG: SILIZIUMOBERFLÄCHEN.....	105
MATERIALIEN.....	105
METHODEN.....	106
ERGEBNISSE.....	109
ZUSAMMENFASSUNG	119
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	123
LITERATURVERZEICHNIS	125
DANKSAGUNG.....	135
LEBENS LAUF	137

VERÖFFENTLICHUNGEN UND KONFERENZBEITRÄGE	139
---	------------

1. Einleitung

„Achte auf das Kleine in der Welt, das macht das Leben reicher und zufriedener.“

Carl Hilty, 1833-1909

1.1. Einführung

Das Verständnis von Prozessen auf mikroskopischer und nanoskopischer Ebene spielt heutzutage in allen naturwissenschaftlichen Disziplinen sowie in vielen Bereichen des Ingenieurwesens eine wichtige Rolle. Die meisten dieser Vorgänge sind jedoch aufgrund ihrer Größe mit dem bloßen Auge nicht beobachtbar. Seit der Erfindung des optischen Mikroskops durch die holländischen Brillenmacher Hans und Zacharias Janssen im Jahr 1595 werden Linsenanordnungen benutzt, um mikroskopisch kleine Gegenstände für das menschliche Auge sichtbar zu machen. Eine generelle physikalische Limitierung für optische Aufbauten verhindert es dabei jedoch, Objekte aufzulösen, die kleiner als der Quotient aus der Wellenlänge des genutzten Lichtes und dem Öffnungswinkel des optischen Systems sind. Diese beugungsbedingte Auflösungsgrenze wird meist nach ihrem Entdecker, dem deutschen Physiker Ernst Karl Abbe, als Abbe-Limit bezeichnet. In dem Bestreben, trotzdem immer kleinere Objekte zu untersuchen, wurden im Laufe des 20. Jahrhunderts verschiedene neue Strategien und Techniken zur Vermessung von Objekten auf sehr kleinen Skalen entwickelt. Als naheliegendste Entwicklung wurde die Wellenlänge der zur Beobachtung genutzten Strahlung reduziert, da diese linear in das Abbe-Limit eingeht. Aus dieser Überlegung entstanden Techniken wie die Röntgenmikroskopie und die Elektronenmikroskopie, bei denen sehr kurzwellige Strahlung genutzt wird, um nur wenige Nanometer große Objekte und Strukturen aufzulösen. Eine weitere Möglichkeit ist es, die Probenoberfläche in einem bestimmten Muster abzurastern. Auf der Basis dieser Idee wurde eine ganze Reihe bildgebender Verfahren entwickelt, deren wohl prominentester Vertreter das Rasterelektronenmikroskop ist. Dieses rastert die zu vermessende Oberfläche mit einem sehr feinfokussierten Elektronenstrahl ab und ermöglicht es, durch aus der Probe herausgelöste Sekundärelektronen, lateral sehr hochauflösende Topographiedaten der Probenoberfläche aufzunehmen. Ein anderer Ansatz ist es, die Probe mit einer extrem spitzen Messsonde in sehr geringem Abstand abzurastern und den durch eine angelegte Potentialdifferenz erzeugten Tunnelstrom zwischen der Spitze der Messsonde und der elektrisch leitenden Probenoberfläche zu vermessen. Hierbei kommen Messsonden zum Einsatz, deren Spitzen Krümmungsradien im Bereich von einigen Na-

nometern aufweisen. Da diese Technik den Tunnelstrom zur Vermessung von Oberflächen benutzt, wird sie allgemein als Rastertunnelmikroskopie bezeichnet. Auf dieser Basis legten im Jahr 1986 Gerd Binnig, Calvin Quate und Christoph Gerber den Grundstein zu einer ganz neuen Mikroskopie-Technik. Sie ermöglicht es, neben Oberflächentopographien auch die Wechselwirkungskräfte zwischen der spitzen Messsonde und der Probenoberfläche zu vermessen.¹ Bei dieser als Rasterkraftmikroskopie (*englisch: Atomic Force Microscopy*) bekannten Technik ist die Messspitze am Ende eines Federbalkens befestigt, über dessen Auslenkung man sehr präzise Rückschlüsse auf die wirkenden Kräfte zwischen der Spitze und der Probe ziehen kann. Bei einer geeigneten Wahl des Federbalkens und der Messspitze kann mit dieser Methode nahezu jede erdenkliche Oberfläche mit einer extrem hohen lateralen Auflösung vermessen werden. Dieser Umstand führte dazu, dass sich die Rasterkraftmikroskopie zu einem Standardverfahren für die Vermessung von Oberflächen auf kleinsten Skalen bis hin zur atomaren Auflösung entwickelte.²

Die nanoskopische Charakterisierung und Modifikation von funktionalen Strukturen auf atomarer und molekularer Skala gewinnt seither im industriellen, medizinischen und wissenschaftlichen Bereich zunehmend an Bedeutung. Nanoskopische Methoden bieten einen zuvor unbekannten Zugang zu physikalischen, biologischen und chemischen Eigenschaften, die einen wesentlichen Einfluss auf makroskopische Prozesse und Phänomene haben. Die auf kleinster Skala beobachteten Materialeigenschaften unterscheiden sich mitunter deutlich von den äquivalenten makroskopischen Größen. Dabei haben oftmals nanoskopische Strukturen einen maßgeblichen Einfluss auf makroskopische Oberflächeneigenschaften und Prozesse. Ein fundiertes Verständnis dieser Zusammenhänge ermöglicht das Design von völlig neuartigen funktionalen Oberflächen, die durch ihr nanoskopisches Design für spezielle Anwendungsbereiche optimiert bzw. geschaffen wurden. Die Bedeutung funktionaler Oberflächen im Alltag wächst beständig. In vielen Bereichen wie zum Beispiel der Automobil- und Elektroindustrie sowie in der medizinischen Diagnostik und bei der Herstellung von biofunktionalen Implantaten sind Materialien mit funktionalen Oberflächen schon heute allgegenwärtig. Neue rasterkraftmikroskopische Verfahren bieten in diesem Zusammenhang den Vorteil, dass durch das physikalische Abtasten der Oberfläche auch mechanische Oberflächeneigenschaften, wie beispielsweise die Elastizität der Oberfläche oder die Adhäsionskraft zwischen Probenoberfläche und Messspitze, quantitativ vermessen und als hochaufgelöste Karten dargestellt werden können. Ein weiteres Anwendungsgebiet, das stark von diesen Möglichkeiten profitiert, ist die Biologie. In diesem Bereich wurden in den letzten Jahrzehnten neuartige Verfahren auf der Basis der Rasterkraftmikroskopie entwickelt, die es erlauben, biologische Proben in physiologischer Lösung nanomechanisch und topographisch zu vermessen.

1.2. Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Anwendbarkeit von neuartigen, speziell für die quantitative Vermessung von nanomechanischen Probeneigenschaften entwickelten Methoden auf verschiedene komplexe Oberflächen zu untersuchen. Im Zuge dieser Untersuchungen wurden vier Oberflächenarten aus dem Bereich der Materialentwicklung sowie aus der Biologie topographisch vermessen und nanomechanisch charakterisiert. Der in

dieser Arbeit verfolgte methodische Ansatz ist auf die nanomechanische Oberflächencharakterisierung von verschiedenen Oberflächenarten unter unterschiedlichen Umweltbedingungen ausgerichtet. Bei der Auswahl der Proben wurde darauf geachtet, dass ein großer Elastizitätsbereich abgedeckt wird. Anhand der vier verschiedenen Probenarten wurde dabei gezeigt, dass in Abhängigkeit von der Probenbeschaffenheit und dem Messmedium unterschiedliche methodische Verfahren für eine quantitative Analyse der nanomechanischen Oberflächeneigenschaften angewandt werden müssen. Die Kapitel dieser Arbeit sind, wie auch der folgende Abschnitt, daher in Unterabschnitte unterteilt, die sich dem jeweiligen Probentyp sowie den in diesem Zusammenhang verwendeten Methoden widmen.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten biologischen Proben handelt es sich um einen speziellen Typ von Makromolekülen, die allgemein als Antikörper bezeichnet werden. Nanomechanische Eigenschaften von Makromolekülen spielen bei biologischen Prozessen wie der Zell-Signalgebung, der Signalweiterleitung durch die Zellmembran³ und der Immunantwort^{4, 5} eine zentrale Rolle. Die strukturelle Flexibilität von Antikörpern erlaubt ihnen, sich an eine Vielzahl von verschiedenen Erregern anzukoppeln. Dabei ist ein fundiertes Wissen über die molekulare Substruktur und die nanomechanischen Eigenschaften der Makromoleküle in flüssiger Umgebung für das Verständnis solcher Prozesse von großer Bedeutung. Ein Ziel dieser Arbeit war es daher, ein schnelles bildgebendes Verfahren aus dem Bereich der Rasterkraftmikroskopie zur Vermessung dieser Art makromolekularer Proben einzusetzen und zu verstehen. Im Fokus der Untersuchung standen dabei die mit dieser Methode erreichbare Genauigkeit, die Zuverlässigkeit der Ergebnisse sowie die maximale erreichbare Auflösung. Als Messmodus wurde in diesen Versuchen der sogenannte *PeakForce QNM*-Modus⁶ verwendet. Exemplarisch wurden menschliche Antikörper vom Typ Immunglobulin M und Immunglobulin G untersucht. Diese Antikörper spielen eine Schlüsselrolle in der Immunantwort aller Säugetiere.⁷ Für ein besseres Verständnis der Flexibilität stand hier die Bestimmung von strukturellen sowie nanomechanischen Informationen über die Elastizität, die Oberflächenadhäsion und die Oberflächenverformung im Vordergrund.

Da nanomechanische Oberflächeneigenschaften auch bei der Entwicklung von synthetischen Materialien eine wichtige Rolle spielen, wurden in dieser Arbeit außerdem semikristalline Proben aus elastomerem Polypropylen analysiert. Dieses Material ist für industrielle Anwendungen von besonderem Interesse, da man durch Variationen im Herstellungsprozess die mechanischen Materialeigenschaften dieses Polymers systematisch kontrollieren kann.^{8, 9} In den Untersuchungen dieses Materials wurde der rasterkraftmikroskopische *PeakForce QNM*-Modus mit einem nanotomographischen Verfahren kombiniert, um auf diese Weise nanomechanische Informationen zur dreidimensionalen Struktur im Inneren des semikristallinen Materials zu erhalten.

Eine weitere synthetische Probenart, auf der das oben erwähnte Verfahren getestet wurde, waren bioaktive Peptid-Polymer-Schichten auf oberflächengebundenen Polymernetzwerken.^{10, 11} Diese speziell für zellphysiologische Anwendungen entwickelten Oberflächenbeschichtungen bestehen aus einem zellabweisenden Polymernetzwerk, welches bei Kontakt mit Wasser aufquillt, und einer strukturierten Peptid-Polymer-Beschichtung,

die auf begrenzten und wohl definierten Oberflächenbereichen das Anhaften von Zellen ermöglicht.¹²⁻¹⁴ Die nanomechanischen Eigenschaften dieser bioaktiven Oberflächen sind für biologische Anwendungen von großem Interesse, da sie Einfluss auf das Verhalten der anhaftenden Zellen haben.¹⁵

Als dritte synthetische Oberflächenart wurden in der Halbleiterherstellung verwendete Silizium-Wafer untersucht.^{16, 17} Da die in der Chip-Herstellung üblichen Strukturgrößen wegen immer besserer Herstellungsverfahren inzwischen im Sub-Mikrometerbereich liegen, müssen bei der Herstellung Oberflächenartefakte und Verunreinigungen dieser Größenordnung zuverlässig entfernt werden. Die nanomechanische Charakterisierung von Siliziumoberflächen wurde in dieser Arbeit durchgeführt, um die Reibung und die Adhäsionskräfte zwischen mikroskopisch kleinen Partikeln und Siliziumoberflächen in flüssiger Umgebung bei verschiedenen pH-Werten quantitativ zu vermessen. Auf diese Weise lassen sich Erkenntnisse für die Entwicklung von Oberflächenreinigungsstrategien gewinnen. Eine Beschreibung der verwendeten Methoden sowie die Ergebnisse dieser Untersuchung befinden sich im Anhang der Arbeit.

2. Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

In diesem Kapitel werden die physikalischen Grundlagen beschrieben, auf denen die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Messprinzipien beruhen. Dazu gehören vor allem auf nanoskopischer Skala auftretende Wechselwirkungen und aus diesen resultierende Kräfte sowie Oberflächencharakteristiken. Zudem enthält dieses Kapitel detaillierte Beschreibungen der Funktionsweise und Betriebsmodi aller experimentellen Aufbauten und Messmethoden.

Als Erfinder der Rasterkraftmikroskopie gelten die Physiker Gerd Binnig, Calvin Quate und Christoph Gerber. In ihrer Publikation von 1986 beschreiben sie ein neuartiges Messverfahren, welches auf der Kombination der damals bekannten Rastertunnelmikroskopie-Technik mit der sogenannten Stylus-Profilometrie basiert.¹ In diesem Artikel beschreiben die Autoren die Möglichkeit, mit einem ultraleichten, schwingenden Federbalken (*engl. Cantilever*) eines Rastertunnelmikroskops und einem Laserstrahl vertikale Auslenkungen in der Größenordnung von 10^{-10} m und somit Kräfte im Bereich von einigen 10^{-18} N zu vermessen. Diese extrem hohe Sensitivität der Kraftmessung erlaubt es, Wechselwirkungen zwischen einzelnen Molekülen und Atomen zu charakterisieren. Um die für eine solche Messung benötigte extrem hohe Ortsauflösung zu erhalten, verwendeten sie eine scharfe Messspitze (*engl. tip*), die am Ende des Federbalkens angebracht war. Aufgrund der hohen Auflösung des verwendeten Rastertunnelmikroskops konnten Binnig, Quate und Gerber mit ihrer ersten Realisierung eines Rasterkraftmikroskops (*engl. atomic force microscope*) (AFM) „Kraftkarten“ mit 3×10^{-10} m lateraler Auflösung aufnehmen, bei denen sie Kräfte mit einer Genauigkeit von bis zu 10^{-18} N beobachteten. Neben einer genauen lateralen Vermessung der Kräfte auf atomarer Skala ist es mit dieser Technik auch möglich, wie mit einem Stylus-Profilometer sowohl leitende als auch nichtleitende Oberflächen sehr genau abzurastern und auf diese Weise hochaufgelöste Höhenkarten und Oberflächenprofile aufzunehmen. In den darauffolgenden Jahren wurden, basierend auf dem von Binnig, Quate und Gerber vorgeschlagenen Prinzip, viele Anpassungen und Modifikationen publiziert und neue Anwendungsgebiete für diese Technik erschlossen.¹⁸⁻²⁰ Die genaue Funktionsweise sowie technische Details zum Aufbau von Rasterkraftmikroskopen sind im Abschnitt 2.1 beschrieben.

2.1. Allgemeine Funktionsweise

Ähnlich wie bei einem Profilometer²¹ sind die grundlegenden Bestandteile eines Rasterkraftmikroskops wie in Abbildung 2.1 gezeigt angeordnet. Eine meist wenige Mikrometer lange und extrem scharfe Spitze (a), die sich am Ende eines Federbalkens (b) befindet, wird benutzt, um die zu vermessende Probenoberfläche (c) abzutasten. Federbalken und Spitze werden üblicherweise als eine Einheit durch spezielle Ätzverfahren aus Silizium (Si) oder Siliziumnitrid (Si_3N_4) hergestellt.^{22, 23} Auf diese Weise können Spitzen mit verschiedenen Geometrien und mit Krümmungsradien von wenigen Nanometern realisiert werden. Zur präzisen Vermessung der Auslenkung des Federbalkens durch zwischen der Messspitze und der Oberfläche wirkende Kräfte wird im Allgemeinen ein Laserstrahl (d) verwendet, der von schräg oben auf das vordere Ende des Federbalkens gerichtet ist. Der von der reflektierenden Oberfläche des Federbalkens zurückgeworfene Laserstrahl wird dann von einer viergeteilten Fotodiode (*engl. position-sensitive detec-*

tor) (PSD) (e) registriert. Wird nun die scharfe Spitze am Ende des Federbalkens in die Nähe der Probe gebracht, so bewirken die Kräfte zwischen Messspitze und Probenoberfläche eine Auslenkung des Federbalkens in vertikaler Richtung. Diese Auslenkung verursacht wiederum eine Ablenkung des Laserstrahls aus seiner Ruheposition auf dem PSD. Aus dem differentiellen Signal der auf den vier separaten Diodenbereichen gemessenen Intensitäten kann so die Position des abgelenkten Strahls und somit die Auslenkung des Federbalkens genau bestimmt werden. Dabei wird über das differentielle Signal der oberen und der unteren zwei Photodioden-Bereiche (T-B Signal) die vertikale Auslenkung des Federbalkens gemessen. Das differentielle Signal des linken und rechten Bereichs der PSD (L-R Signal) ermöglicht es, die Torsion des Federbalkens durch lateral wirkende Kräfte zu bestimmen. Die Relation zwischen der Laserstrahlablenkung und der Auslenkung des Federbalkens wird als vertikale Ablenkungs-Sensitivität bezeichnet. Eine weitere Komponente von Rasterkraftmikroskopen ist die piezo-elektrische 3D-Verschiebeeinheit (f). Diese erlaubt es zum einen, die Probe in extrem kleinen, lateralen Bereichen abzuscannen, zum anderen ist über die Verbindung mit einem Rückkopplungs-Regelkreis (*engl. feedback control unit*) eine Anpassung des Abstandes zwischen Federbalken und Oberfläche möglich. In einigen Modellen ist die laterale Verschiebeeinheit vom z-Piezo-Element getrennt. In diesem Fall ist die xy-Verschiebeeinheit meistens im Probenhalter untergebracht, während sich die z-Verschiebeeinheit am Federbalkenhalter im sogenannten „Messkopf“ des Gerätes befindet.

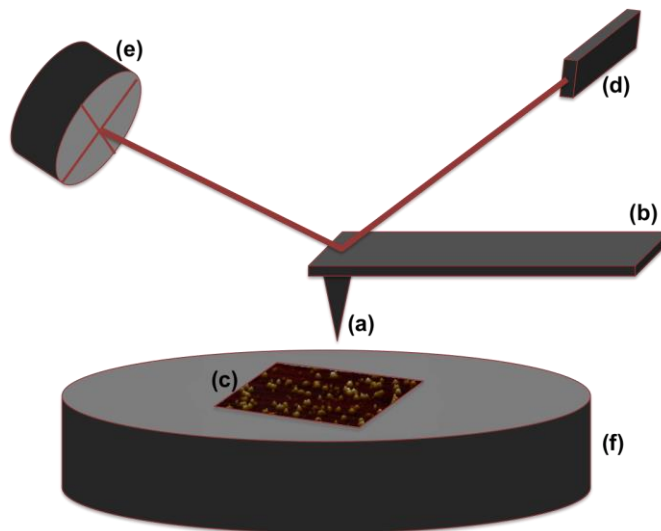


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau eines Rasterkraftmikroskops, bestehend aus einer scharfen Messspitze (a), einem Federbalken (b), einem Laser (d) und einer viergeteilten Photodiode (e) zur Vermessung der Auslenkung des Federbalkens. Die Probe (c) wird auf einer piezoelektrischen xyz-Verschiebeeinheit (f) befestigt.

2.2. Kräfte zwischen Messspitze und Probe

Die zwischen der Messspitze und der Probe wirkenden Kräfte lassen sich in attraktive und repulsive Kräfte und in kurz- oder langreichweitige Kräfte unterteilen. Zu den attraktiven Kräften zählen elektrostatische bzw. magnetische Anziehung, Van-der-Waals-Kräfte, Kapillarkräfte, Kräfte durch metallische bzw. Ionenbindung und kovalente Bindungskräfte. Dagegen können auf der repulsiven Seite elektrostatische und magnetische Abstoßung sowie die Abstoßung durch das Pauli-Prinzip und durch Coulombkräfte wir-

ken. In Abbildung 2.2 ist diese Aufteilung der Kräfte und deren Reichweite dargestellt. Von kurzreichweitigen Kräften spricht man im Allgemeinen, wenn die Wechselwirkung im Bereich weniger Nanometer oder darunter stattfindet. Kräfte, die auf größeren Skalen wirken, wie zum Beispiel elektrostatische Kräfte, werden dagegen als langreichweitig bezeichnet.

Da die Kraft zwischen der Messspitze und der Probe meist das Resultat einer Überlagerung verschiedener Kräfte bzw. Wechselwirkungen ist, die je nach Abstand zur Probe unterschiedlich stark an der resultierenden Kraft beteiligt sind, werden diese im Folgenden genauer beschrieben. Die Wechselwirkungen und der physikalische Hintergrund der jeweiligen Kraft werden hier sortiert nach ihrer Reichweite, also entlang des blauen Pfeils in Abbildung 2.2, beschrieben.

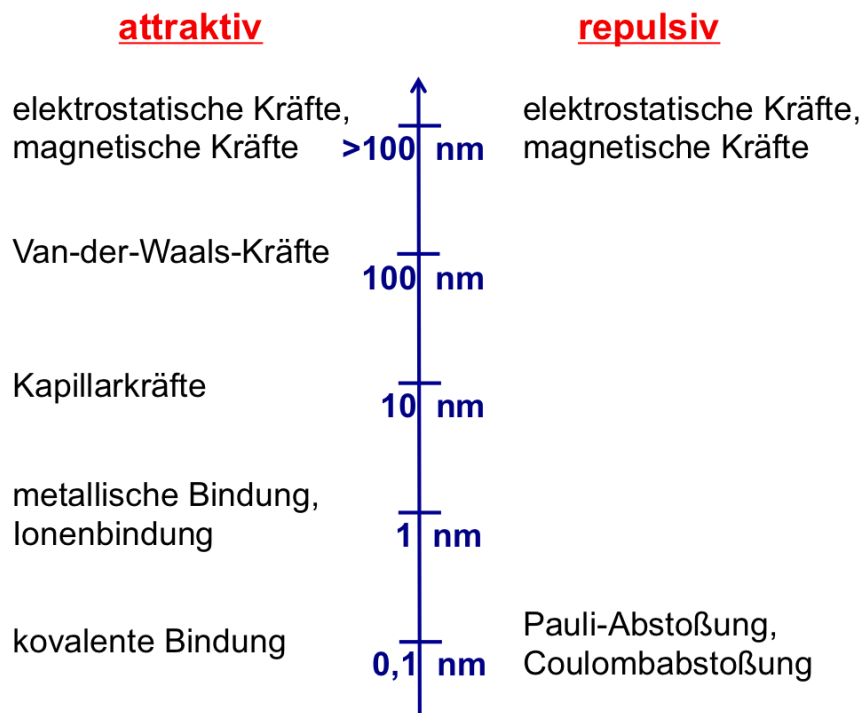


Abbildung 2.2: Übersicht der verschiedenen physikalischen Effekte, die bei Messungen mit Rasterkraftmikroskopen einen Einfluss auf die Wechselwirkung zwischen Messspitze und Oberfläche haben. Die Kräfte sind entsprechend der maximalen Reichweite ihrer Wechselwirkung auf einer logarithmischen Skala sortiert.

Pauli-Repulsion und kurzreichweitige Coulombabstoßung

Liegt der Abstand zwischen Messspitze und Oberfläche im Subnanometer-Bereich, so gewinnen atomare und quantenmechanische Wechselwirkungen mehr und mehr an Bedeutung. Wenn die Elektronenwellenfunktionen der Atome in der Messspitze die Wellenfunktionen der zu vermessenen Oberfläche durchdringen, entsteht eine starke, repulsive Kraft, die aus den folgenden zwei Wechselwirkungen resultiert.

- **Pauli-Abstoßung:** Da die Hüllenelektronen der vordersten Atome in der Messspitze sowie der Atome in der Probe Fermionen sind, ist es ihnen wegen des Paulischen Ausschlussprinzips verboten, den gleichen quantenmechanischen Zustand einzunehmen. Aus diesem Grund muss beim oben beschriebenen Durchdringen

der Elektronenwellenfunktionen viel Energie aufgebracht werden, um die Hüllenelektronen in energetisch höhere Orbitale zu befördern, was eine repulsive Kraft zur Folge hat.²⁴

- **Coulombabstoßung:** Ein weiterer Effekt, der bei einer Annäherung auf atomarer Skala eine wichtige Rolle spielt, ist die Coulombabstoßung zwischen den Kernen einzelner Atome. Diese wird hier wirksam, da die jeweiligen Elektronenhüllen beim gegenseitigen Durchdringen ihre neutralisierende Wirkung verlieren.

Diese zwei Mechanismen, die ein kraftfreies, physikalisches Durchdringen von Atomen der Spitze und der Probe verhindern, lassen sich auf verschiedene Arten modellieren. Die in diesem Zusammenhang wohl einfachste Methode ist das *hard-sphere model*, welches feste Atomradien r_a annimmt. Die Abstoßung wird nun als Potential $U_h(r)$ modelliert (2.1), das, so lange keine Berührung stattfindet, gleich null ist und, sobald sich die Atome berühren, ins Unendliche ansteigt

$$U_h(r) = \begin{cases} 0 & r > 2 r_a \\ \infty & r < 2 r_a \end{cases} \quad (2.1)$$

In diesem Modell verhalten sich die Atome also wie Billardkugeln, die sich nicht durchdringen können. Eine genauere Beschreibung der Situation liefert das sogenannte *soft-sphere model*.²⁵ Dieses Modell geht davon aus, dass sich Atome bei genügend großen Kräften durchdringen können. Das entgegenwirkende Potential U_s (2.2) steigt allerdings mit abnehmendem Abstand r stark an. In dieser ursprünglichen Formulierung des Modells beschreibt Gilbert et al.²⁵ den Verlauf des Potentials durch eine Exponentialfunktion, welche zu kleinen Radien stark ansteigt. Gebräuchlicher ist heutzutage allerdings die folgende Parametrisierung:

$$U_s(r) = \epsilon \left(\frac{r_a}{r} \right)^n \quad (2.2)$$

Die Steilheit des Potentials wird in dieser Gleichung durch den Exponenten n bestimmt. Üblicherweise wird ein Exponent von $n = 12$ angenommen, während die Konstante ϵ für die meisten Elemente empirisch ermittelt wird.²⁶

Kovalente Bindungen

Beim oben beschriebenen Durchdringen kann es für bestimmte Elemente auch zu einer kurzreichweitigen, attraktiven Wechselwirkung zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche kommen. Verantwortlich für diese Wechselwirkung ist ein bereits im Jahr 1916 entdeckter Effekt. Nähern sich zwei Atome, deren äußere Elektronenschale nicht komplett gefüllt ist, kann es energetisch vorteilhaft sein, sich ein oder mehrere Valenzelektronen zu teilen.^{27, 28} Das als kovalente Bindung bekannte Prinzip ist einer der Grundmechanismen der Molekularchemie.

Die resultierende Kraft hängt stark von den verwendeten Materialien ab. Die Vermessung der kovalenten Wechselwirkung mit Rasterkraftmikroskopen steht seit längerem im Fokus experimenteller und theoretischer Studien,^{29, 30} da diese Messungen Einblicke in atomare Bindungsmechanismen von Molekülen und Kristallgittern erlauben.

Metallische Bindungen

Besteht sowohl die Spitze als auch die Oberfläche aus einem Metall, kann eine weitere attraktive Wechselwirkung für einen zusätzlichen Kraftbeitrag sorgen. Verantwortlich für metallische Bindungen sind die äußersten Hüllenelektronen (sogenannte Valenzelektronen) der Metallatome. Valenzelektronen spüren wegen der abschirmenden Wirkung der inneren Hüllenelektronen nur ein schwaches Coulomb-Potential und können sich daher leicht von ihren Ursprungsatomen lösen. Bei einer metallischen Bindung, also zum Beispiel in einem metallischen Gitter, existieren diese Elektronen dann als freies Fermi-Gas zwischen den (leicht positiv geladenen) Atomrümpfen.

Die Reichweite der resultierenden Kraft liegt, wie in Abbildung 2.2 gezeigt, im Bereich von einigen Nanometern und kann mitunter recht stark sein. Aus diesem Grund muss bei Messungen mit Rasterkraftmikroskopen, in denen eine metallische Oberfläche mit einer metallischen Messspitze abgetastet wird, mit metallischer Adhäsion gerechnet werden. Der quantitative Einfluss metallischer Bindungen in der Rasterkraftmikroskopie wurde für eine Vielzahl von Materialkombinationen in verschiedenen Studien charakterisiert,³¹⁻³³ welche zudem weitere Hintergründe zu dieser Art der Wechselwirkung beschreiben.

Kapillarkräfte

Kapillarkräfte haben mit einer Reichweite von etwa 10 nm (vgl. Abbildung 2.2) einen mitunter dominanten Einfluss auf die Kraftbilanz, wenn aus messtechnischen Gründen nicht im Vakuum oder in Flüssigkeit gemessen werden kann. In diesem Fall kann es passieren, dass Flüssigkeiten (insbesondere Wasser) auf der Probenoberfläche bzw. an der Messspitze kondensieren. Nach jeder Berührung der Probenoberfläche bildet sich dann, wie in Abbildung 2.3 (links) gezeigt, ein Meniskus und eine damit verbundene starke attraktive Kraft zwischen der Messspitze und der Oberfläche aus.^{20, 34} Auch auf trockenen Proben kann es für sehr kleine Abstände zwischen Messspitzenoberfläche und Probenoberfläche zu einer lokalen Absenkung des Sättigungsdampfdrucks und somit zu Kondensation und zur Ausbildung eines Flüssigkeits-Meniskus kommen. Dieser Effekt ist allgemein als Kapillarkondensation (*eng. capillary condensation*) bekannt.³⁵

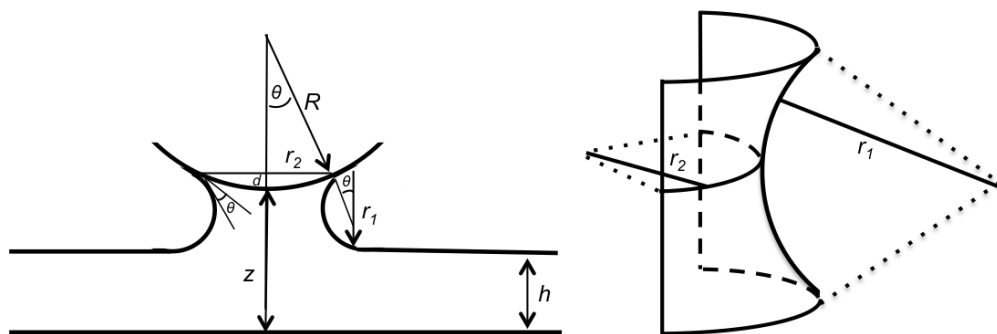


Abbildung 2.3: (links) Skizze zur Verdeutlichung des mathematischen Modells, das die Kapillarkräfte, die zwischen der Messspitze eines Rasterkraftmikroskops und der Probenoberfläche auftreten können, beschreibt. z ist dabei der Abstand zwischen der Messspitze und der Oberfläche der Probe, h ist die Höhe der Flüssigkeitsschicht, und R ist der Krümmungsradius der Messspitze. (rechts) Skizze der zwei Radien des Flüssigkeitsmeniskus aufgrund des Laplace-Drucks.

In der folgenden Betrachtung wird angenommen, dass die Messspitze aus einem hydrophilen Material besteht, wie auch an der Größe des Kontaktwinkels $\theta < 90^\circ$ zu erkennen ist.

Die Größe der Kapillarkraft wird maßgeblich von der Größe des Laplace-Drucks Δp bestimmt, der sich aus den zwei in Abbildung 2.3 (rechts) gezeigten Meniskusradien r_1 , r_2 und der Oberflächenspannung σ nach (2.3) bestimmen lässt. Die zwei Krümmungsradien des Meniskus können zum sogenannten Kelvin-Radius $r_k = 1/(1/r_1 + 1/r_2)$ zusammengefasst werden³⁴

$$\Delta p = \sigma \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) = \frac{\sigma}{r_k}. \quad (2.3)$$

Der Kelvin-Radius des Meniskus lässt sich wiederum aus dem Partialdruck p_s über den folgenden Zusammenhang bestimmen³⁴

$$r_k = \frac{\sigma V}{\mathcal{R} T \log(p/p_s)}. \quad (2.4)$$

In dieser Gleichung steht \mathcal{R} für die allgemeine Gaskonstante, T für die Temperatur und V für die molare Masse der Flüssigkeit. Der in (2.3) beschriebene Laplace-Druck Δp wirkt dabei auf der gesamten Grenzfläche zwischen Messspitze und Flüssigkeit, welche durch

$$\pi r_2^2 \approx 2\pi R \quad (2.5)$$

beschrieben werden kann. Hier bezeichnet R den in Abbildung 2.3 gezeigten Krümmungsradius der Messspitze. Aus (2.3) und (2.5) ergibt sich die folgende Gleichung für die Kapillarkraft²⁰

$$F_{\text{cap}} = \Delta p \cdot 2\pi R d = \frac{2\pi R d \sigma}{r_k}. \quad (2.6)$$

In Abbildung 2.3 ist zu erkennen, dass $r_1 \cos\theta + r_1 = z + d - h$ gilt. Daraus folgt mit (2.6) für die Kapillarkraft

$$F_{\text{cap}} = \frac{2\pi R \sigma (1 + \cos\theta)}{1 + \frac{z-h}{d}}. \quad (2.7)$$

Wenn man in dieser Gleichung jetzt auch noch die Filmdicke vernachlässigt ($h = 0$), erhält man den von Israelachvili²⁶ und Meyer et al.³⁴ beschriebenen Zusammenhang

$$F_{\text{cap}} = \frac{2\pi R \sigma \cos\theta}{1 + \frac{z}{d}}. \quad (2.8)$$

Wegen der vergleichsweise starken Wechselwirkung können während der Messung auftretende Kapillarkräfte Rasterkraftmikroskopie-Messungen stark stören und müssen je nach Luftfeuchtigkeit bzw. Dampfdruck und Temperatur in jedem Fall berücksichtigt werden.³⁴ Eine oft praktizierte Methode, die genutzt wird, um den Einfluss von Kapillarkräften in der Rasterkraftmikroskopie zu umgehen, ist, wie von Weisenhorn et al.³⁶ vorgeschlagen, die Probe mitsamt Messspitze für die Messung in eine Flüssigkeit einzutauchen. In anderen Studien macht man sich dagegen die kapillare Wechselwirkung zu

Nutze, um die Eigenschaften von mikroskopisch dünnen Filmen auf Oberflächen zu vermessen.^{37, 38} Kapillarkräfte zwischen der Messspitze und der Oberfläche spielen außerdem eine entscheidende Rolle bei nanolithographischen Rasterkraftmikroskopietechniken.³⁹

Van-der-Waals-Kräfte

Van-der-Waals-Kräfte wirken auf einer etwas größeren Skala (vergleiche Abbildung 2.2). Ursprung dieser Kräfte sind Fluktuationen der elektrischen Dipole von Atomen und Molekülen und ihre gegenseitige Polarisierung.²⁸ Grundlegend verantwortlich für diese Wechselwirkung sind drei Mechanismen, deren jeweilige Wechselwirkungspotentiale in der Summe das sogenannte Van-der-Waals-Potential

$$U_{\text{vdw}}(r) = U_{\text{pol}}(r) + U_{\text{ind}}(r) + U_{\text{disp}}(r) \quad (2.9)$$

ergeben. Die einzelnen Komponenten dieser Summe sind im Folgenden beschrieben.

- **Dipol-Dipol-Wechselwirkungs-Potential $U_{\text{pol}}(r)$:** Beschreibt die elektrostatischen Kräfte zwischen zwei Molekülen mit permanenten Dipolmomenten (auch Orientierungskräfte genannt). Das zugehörige Potential ist durch

$$U_{\text{pol}}(r) \sim \frac{1}{k_b T} \frac{1}{r^6} \quad (2.10)$$

gegeben. In dieser Gleichung steht k_b für die Boltzmann-Konstante, und T ist die thermodynamische Temperatur.²⁸

- **Dipol-induziertes Dipol-Wechselwirkungs-Potential $U_{\text{ind}}(r)$:** Dieses Potential beschreibt die Wechselwirkung zwischen einem neutralen Atom oder Molekül und einem Molekül mit permanentem Dipolmoment. Die resultierenden Kräfte werden oft als Induktionskräfte bezeichnet. Wird ein neutrales Atom mit der Polarisierbarkeit ϵ in das elektrische Feld \vec{E} eines Ions der Ladung q gebracht, so wird ein Dipolmoment \vec{p}_1 induziert²⁸

$$\vec{p}_1 = \frac{\epsilon \cdot q}{4\pi\epsilon_0 r^2} \vec{\mathcal{R}}. \quad (2.11)$$

Die Richtung des Dipolmoments wird hier durch den Einheitsvektor $\vec{\mathcal{R}}$, der in Richtung der Verbindungslinie zwischen dem neutralen Atom und dem Ion mit Ladung q zeigt, bestimmt. Im Feld \vec{E} ergibt sich dadurch die potentielle Energie

$$E_{\text{pot}} = -\vec{p}_1 \cdot \vec{E} = -(\epsilon \vec{E}) \cdot \vec{E}. \quad (2.12)$$

Wenn jetzt das elektrische Feld eines ebenfalls neutralen Atoms mit einem permanenten Dipolmoment \vec{p}_2 wechselwirkt, so ergibt sich für das Potential nach Demtröder²⁸ der folgende Zusammenhang

$$U_{\text{ind}}(r) = -\frac{\epsilon p_2^2}{(4\pi\epsilon_0 r^3)^2} (3 \cos^2 \vartheta + 1) \sim \frac{1}{r^6}. \quad (2.13)$$

Hier beschreibt ϑ den Winkel zwischen $\vec{\mathcal{R}}$ und \vec{p}_2 .

- **Dispersions-Wechselwirkungs-Potential $U_{disp}(r)$:** In der Molekülphysik können auch neutrale Atome bzw. Moleküle über Dipolmomente miteinander wechselwirken. Das zeitlich gemittelte Dipolmoment eines solchen Atoms oder Moleküls, mit im Mittel neutraler Ladungsverteilung, ist zwar gleich Null, es können aber durch zeitliche Fluktuationen momentane Dipolmomente auftreten, die über elektrische Felder eine Wechselwirkung mit benachbarten Atomen ermöglichen. Zwei im zeitlichen Mittel neutral geladene Atome A und B mit den Polarisierbarkeiten ϵ_a und ϵ_b können sich demnach polarisieren, was zu den Dipolmomenten

$$\vec{p}_a = \epsilon_a \vec{E}_b \text{ und } \vec{p}_b = \epsilon_b \vec{E}_a \quad (2.14)$$

führt.²⁸ Da in diesem Fall die elektrischen Felder parallel zur Verbindungsachse $\vec{\mathcal{R}}$ sind, kann man die beiden elektrischen Felder \vec{E}_a und \vec{E}_b unter Zuhilfenahme von (2.11) als

$$\vec{E}_a = \frac{2 p_a}{4\pi\epsilon_0 r^3} \vec{\mathcal{R}} \text{ und } \vec{E}_b = \frac{2 p_b}{4\pi\epsilon_0 r^3} \vec{\mathcal{R}} \quad (2.15)$$

schreiben. Die Wechselwirkungsenergie der beiden Atome A und B kann somit nach (2.12) geschrieben werden als

$$E_{pot} = -\vec{p}_b \cdot \vec{E}_a = -p_a \cdot \vec{E}_b. \quad (2.16)$$

Aus dieser Gleichung lässt sich dann mit (2.13) das dritte, in der Summe (2.9) enthaltene, Wechselwirkungs-Potential²⁸

$$U_{disp}(r) = -C_1 \frac{\epsilon_a \epsilon_b}{r^6} \sim \frac{1}{r^6} \quad (2.17)$$

bestimmen.

Da, wie oben gezeigt, alle drei Summanden in (2.9) proportional zu r^{-6} sind, gilt diese Beziehung auch für das resultierende Van-der-Waals-Potential.

Geht man nun davon aus, dass die Van-der-Waals-Kraft in der Messspitze und der Oberfläche isotrop und additiv wirkt, so lässt sich der resultierende Kraftbeitrag durch Van-der-Waals-Kräfte als Summe der Beiträge einzelner Atome auffassen. Diese Summe lässt sich dann durch ein Volumenintegral über ein Volumen mit konstanter Dichte beschreiben.⁴⁰ Eine gängige Methode zur Abschätzung der Van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen makroskopischen Körpern ist der sogenannte Hamaker-Ansatz.⁴¹ Dieser Ansatz kann dazu benutzt werden, die Van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen einer Kugel in der Nähe einer Ebene zu bestimmen, um die Kräfte zwischen der Messspitze eines Rasterkraftmikroskops und einer Oberfläche zu approximieren. Für eine sphärische Messspitze mit Radius R und eine Distanz z zwischen den Oberflächen der Messspitze und der Ebene ergibt sich so nach Israelachvili²⁶ das Van-der-Waals-Potential

$$U_{vdw-sphere}(z) = -\frac{A_H R}{6 z}. \quad (2.18)$$

Die daraus resultierende Van-der-Waals-Kraft ist also für sphärische Messspitzen vor einer Ebene proportional zu $1/z^2$. Für konische Messspitzen ist die Kraft dagegen proportional zu $1/z$.⁴⁰ Der Parameter A_H ist die sogenannte Hamaker-Konstante. Diese materialabhängige Konstante wird stark von der Polarisierbarkeit der involvierten Materialien, deren atomaren Dichten und dem umgebenden Medium beeinflusst und liegt im Allgemeinen bei etwa 1 eV.

Lennard-Jones-Potential

Empirisch wird der Potentialverlauf zur Beschreibung der intramolekularen bzw. intratomaren Wechselwirkungen häufig durch das Lennard-Jones-Potential beschrieben

$$U_{L-J}(r) = \frac{a}{r^{12}} - \frac{b}{r^6}. \quad (2.19)$$

Die Parameter a und b sind dabei Anpassungsparameter, aus denen sich zum Beispiel der Bindungsabstand und die Bindungsenergie ermitteln lassen.²⁸ In dieser Gleichung finden sich die repulsive r^{-12} Abhängigkeit aus (2.2) sowie ein attraktiver r^{-6} Anteil, wie er in (2.19) beschrieben ist.

Elektrostatische und magnetische Kräfte

Wie in Abbildung 2.2 gezeigt ist, haben die elektrostatische und die magnetische Wechselwirkung von allen für die Rasterkraftmikroskopie relevanten Effekten die größte Reichweite.

Elektrostatische Kräfte können in der Rasterkraftmikroskopie auftreten, da sich das System aus Messspitze und Probenoberfläche bei Potentialdifferenzen wie ein Kondensator verhält. Die in diesem System enthaltene Energie E_e lässt sich aus der elektrischen Kapazität C_e und der Potentialdifferenz V durch (2.20) ermitteln

$$E_e = \frac{C_e V^2}{2}. \quad (2.20)$$

Dabei ist die elektrische Kapazität des Systems vom Abstand z zwischen Messspitze und Oberfläche abhängig. Sie lässt sich aus (2.20) der Kraft zwischen der Messspitze und der Probe durch

$$F = -\frac{1}{2} \frac{d}{dz} C_e V^2 \quad (2.21)$$

bestimmen.²⁰ Wie in (2.21) zu erkennen ist, wird eine analytische Beschreibung der elektrischen Kapazität C_e benötigt, um in der elektrostatischen Kraftmikroskopie (*engl. electrostatic force microscopy* (EFM)) quantitative Aussagen über wechselwirkende Kräfte machen zu können. Eine detaillierte Herleitung der elektrischen Kapazität eines Systems aus einer sphärischen Messspitze und einer flachen Oberfläche ist in Butt et al.¹⁸ beschrieben. Aus den auf diese Weise gewonnenen Kraftkarten lässt sich dann die laterale Potentialverteilung in der Probenoberfläche berechnen.

Zur Vermessung der magnetischen Probeneigenschaften mit Hilfe der Rasterkraftmikroskopie wird die Kraft der langreichweitigen, magnetischen Wechselwirkung (siehe Abbildung 2.2) vermessen. Damit es zu einer magnetischen Wechselwirkung zwischen der

Probe und der Messspitze kommen kann, muss die Messspitze ferromagnetische Eigenschaften aufweisen. Dies wird im Allgemeinen durch eine dünne metallische Beschichtung (z.B. aus Eisen, Nickel oder Cobalt) der Messspitze erreicht, die sich leicht magnetisieren lässt.^{19, 20} Da es sich bei der in der Magnetkraft-Mikroskopie (*engl. magnetic force microscopy* (MFM)) vermessenen Kraft um das Resultat einer langreichweitigen Wechselwirkung handelt, wird die Messspitze bei MFM-Messungen äquidistant mit einem Abstand von üblicherweise etwa 20 nm über die Oberfläche geführt.¹⁹

Kräfte in Flüssigkeiten

Wie im vorhergehenden Abschnitt über Kapillarkräfte erwähnt, kann deren störender Einfluss auf Kraftmessungen beseitigt werden, indem man das System aus Messspitze und Probenoberfläche in eine Flüssigkeit eintaucht.^{34, 36} Dieses Vorgehen kann außerdem zu einer erheblichen Verringerung der langreichweitigen Kräfte zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche führen. Dabei können zum Beispiel der Einfluss der zuvor beschriebenen Van-der-Waals-Kräfte und der Einfluss der elektrostatischen Coulombkräfte wegen der geänderten Permittivität des umgebenden Mediums stark reduziert werden.³⁴

Flüssigkeitsmessungen mit Rasterkraftmikroskopen werden außerdem in vielen biologischen Studien verwendet, um biologische Proben in physiologischen Lösungen zu untersuchen, die ihrer natürlichen Umgebung entsprechen.¹⁸

Bei Kraftmessungen mit Rasterkraftmikroskopen in Flüssigkeiten treten hingegen andere Kräfte auf, welche im Vakuum oder an der Luft nicht beobachtet werden. Die vier wichtigsten Effekte, die bei Kraftmessungen in Flüssigkeiten berücksichtigt werden sollten, sind der Kraftbeitrag durch Solvatisierungskräfte (*engl. solvation forces*), der Einfluss von Doppelschichtkräften (*engl. double-layer forces*), die sogenannte Hydrations-Abstoßung (*engl. hydration repulsion*) und zusätzlich, bei wasserabweisenden Materialien, die hydrophobische Anziehung (*engl. hydrophobic attraction*). In der Fachliteratur sind diese Kräfte fast ausschließlich unter ihren englischen Bezeichnungen zu finden, weshalb sie in der folgenden Erläuterung mit ihren englischen Namen bezeichnet werden.¹⁸

Wenn der Abstand zwischen der Messspitze des Rasterkraftmikroskops und der Probenoberfläche in der gleichen Größenordnung liegt wie die Größe der umgebenden Flüssigkeitsmoleküle, kann es zu periodischen Dichteschwankungen senkrecht zur Oberfläche kommen. Dies liegt daran, dass beim Annähern der Oberflächen auf dieser kleinen Skala eine Molekülschicht nach der anderen aus dem Zwischenraum gepresst wird. Da die generelle Ursache dieser Wechselwirkung die Attraktion zwischen Molekülen des Fluids und dem verwendeten Oberflächenmaterial ist, wird dieser Kraftbeitrag bei Kraftmessungen in Flüssigkeit als *solvation force* bezeichnet. Der oszillierende Verlauf des Kraftpotentials bei Abständen dieser Größenordnung wurde zuerst um 1980 theoretisch und in Computersimulationen vorhergesagt⁴² und erst Jahre später experimentell bestätigt.¹⁸ Mathematisch lassen sich *solvation forces* zwischen zwei planaren Flächen über die Gleichungen eines gedämpften, harmonischen Oszillators beschreiben. Für die *solvation force* F_{solv} als Funktion des Abstandes z zwischen einer Kugel mit Radius R und einer planaren Fläche entwickelte Horn et al.⁴³ die folgende Beschreibung:¹⁸

$$F_{solv}(z) = F_0 \cos\left(\frac{2\pi z}{D}\right) \exp\left(-\frac{z}{\lambda_s}\right). \quad (2.22)$$

In diesem Modell steht D für den Durchmesser der Moleküle im Fluid, F_0 ist die Maximalkraft bei Kontakt der beiden Flächen ($z = 0$), und λ_s ist ein Kontrollparameter, der von der Art der Flüssigkeit und vom Material der Oberflächen abhängt. Eine umfangreiche Übersicht über aktuelle Studien in diesem Zusammenhang ist in der Publikation von Butt et al.¹⁸ beschrieben.

Werden Oberflächen aus Materialien mit einer hohen Dielektrizitätskonstante in eine Flüssigkeit eingetaucht, so entsteht für gewöhnlich ein elektrostatisches Feld. Durch Absorption von in der Flüssigkeit enthaltenen Ionen oder durch Ionisation der Oberfläche bildet sich eine statische Oberflächenladung, die an der Grenzfläche von einer Schicht aus Gegenionen (*engl. counter ions*) neutralisiert wird. Die geladene Oberfläche und die Gegenionenschicht in der Flüssigkeit werden als elektrische Doppelschicht (*engl. electric double-layer*) bezeichnet, und die Kraft die wirkt, wenn diese Doppelschicht gestört wird, ist allgemein als Doppelschichtkraft (*engl. double-layer force*) bekannt. Nähern sich also zwei gleich geladene Flächen einander, so steigt die Ionendichte zwischen den beiden Grenzflächen, und es resultiert eine repulsive Kraft. Der Verlauf der *double-layer force* als Funktion des Abstandes ist für Abstände, in der Größenordnung der Debye-Länge, exponentiell

$$F_{dl}(z) \sim \exp\left(-\frac{z}{\lambda_d}\right). \quad (2.23)$$

Die charakteristische Länge in (2.23) ist die sogenannte Debye-Länge λ_d . Sie hängt im vereinfachten Fall, für monovalente Elektrolyte, wie in Gleichung (2.24) gezeigt, von der Ionenkonzentration c , der Temperatur T und der Permittivität des Mediums ϵ_r ab

$$\lambda_d = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_r k_b T}{2 c e^2}}. \quad (2.24)$$

Die Konstante e in dieser Gleichung ist die elektrische Elementarladung, und ϵ_0 ist die elektrische Feldkonstante (Permittivität des Vakuums).⁴⁴

Um eine quantitative Aussage über den Einfluss der *double-layer force* auf Kraftmessungen treffen zu können, wurden die theoretischen Erkenntnisse von der molekularen Skala mit Hilfe der Kontinuums-Theorie auf ein System, bestehend aus einer parabolischen Messspitze und einer flachen Oberfläche, übertragen.^{45, 46} Eine ausführlichere Beschreibung der Einflüsse der *double-layer force* auf Kraftmessungen sowie Verweise auf tiefergehende Studien sind in den Publikationen von Butt et al. und Cappella et al. zu finden.^{18, 47}

Für Oberflächenabstände im Bereich von einem Moleküldurchmesser und kleiner versagen die oben beschriebenen Modelle der *double-layer force* zur Beschreibung der wechselwirkenden Kräfte zwischen Messspitze und Probe. In diesem Bereich entstehen, je nachdem, ob die Oberflächen hydrophil oder hydrophob sind, repulsive bzw. attraktive Kräfte, die mit den Wasseranlagerungen (*engl. hydration*) von Molekülen an der Oberfläche verbunden sind. Dieser im Englischen *hydration attraction* oder *hydration repul-*

sion genannte Effekt fällt ähnlich wie die *double-layer force* (vergleiche (2.24)) exponentiell mit dem Abstand der Oberflächen ab. Die charakteristische Länge λ_h ist mit 0.2 nm bis 1.4 nm deutlich kleiner. Im Gegensatz zur elektrostatischen *double-layer force* steigt die Reichweite und die Stärke der Wechselwirkung mit zunehmender Ionenkonzentration.¹⁸

2.3. Kraftspektroskopie

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit für Rasterkraftmikroskope ist die lokale Vermessung von Probeneigenschaften wie zum Beispiel der Elastizität oder der Adhäsionskraft einer Probenoberfläche auf der Nanometerskala. Zu diesem Zweck wird die Messspitze als Nanoeindringkörper (*engl. nanoindenter*) benutzt, mit definierter Kraft kontrolliert in die Probe gedrückt und anschließend wieder angehoben. Rasterkraftmikroskope haben in diesem Zusammenhang enorme Vorteile, da sie es ermöglichen, Proben mit extrem hoher Orts- und Kraftauflösung zu vermessen. Außerdem kann durch Anpassung der Kraftkonstante k des Federbalkens (siehe Abschnitt 2.1) und der Geometrie der Messspitze ein breites Spektrum an Materialien mit verschiedenen Elastizitäten vermessen werden. Es können dadurch sowohl sehr weiche Proben wie biologische Materialien als auch vergleichsweise harte Proben wie Siliziumoberflächen charakterisiert werden.

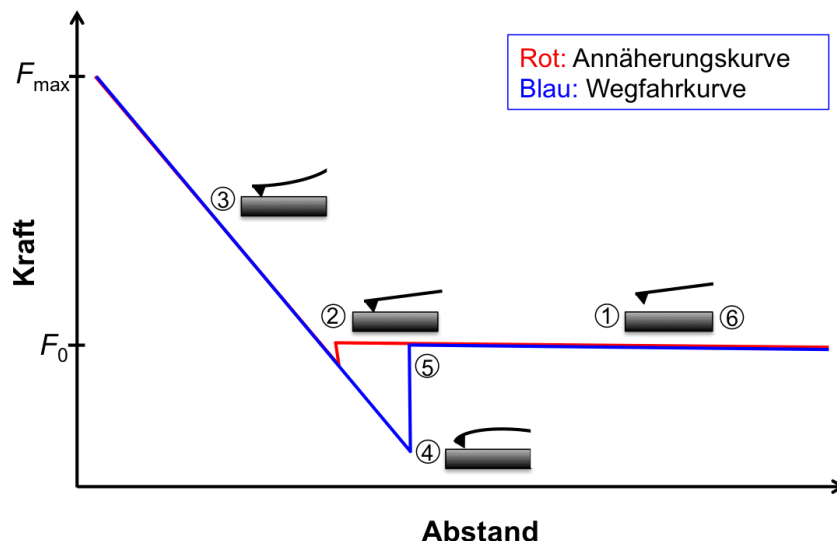


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung einer Kraft-Abstands-Kurve. Hier wird der Federbalken durch die piezoelektrische z -Verschiebeeinheit an die Probe angenähert (1). In der unmittelbaren Nähe der Probe wird die Messspitze durch die attraktive Wechselwirkung mit der Oberfläche angezogen (2). Im darauf folgenden Bereich (3) übt die Messspitze Druck auf die Oberfläche aus und verformt diese. Beim Zurückfahren während der sogenannten Wegfahrkurve (*engl. retrace*) bleibt die Spitze wegen der attraktiven Kräfte an der Oberfläche haften, bis der Kontakt abreißt (4).

In Abbildung 2.4 ist beispielhaft der Verlauf einer Kraft-Abstands-Kurve (*engl. force distance (FD)*) für ein unendlich hartes Material gezeigt. Generell lassen sich Kraft-Abstands-Kurven in zwei Bereiche unterteilen:

- Die Annäherungskurve (*engl. trace curve*) beschreibt den Verlauf der Kraft beim Heranfahren und gegebenenfalls beim Eindringen der Messspitze in die Probe. In der englischen Literatur wird dieser Bereich auch oft als *approach curve* oder *trace curve* bezeichnet. Dieser Teil der Kurve ist in Abbildung 2.4 rot gezeichnet

und verläuft von rechts nach links und zum Teil unter der blauen Kurve. Sie beginnt an Punkt (1) in der Abbildung, wo die Messspitze die Probe noch nicht berührt. Diese Linie bei der Kraft F_0 wird im Englischen meist als *zero-force line* bezeichnet. Sobald die Messspitze in einen Bereich kommt, in dem der Betrag des Gradienten der attraktiven Wechselwirkung mit der Probenoberfläche größer wird als die Kraftkonstante k des Federbalkens, kommt es bei Punkt (2) in der Abbildung zum sogenannten *snap in*, wo der Federbalken zur Probe hingezogen wird. Da es sich in diesem Beispiel um eine unendlich harte Probe handelt, steigt die Kraft danach bei (3), wie im Hookeschen Gesetz (2.44) beschrieben, linear bis zu einer vom Anwender im Vorhinein definierten Maximalkraft (dem sog. *set-point*) an.

- Der Rückweg (in Abbildung 2.4 von links nach rechts) einer Kraft-Abstands-Kurve wird als Wegfahrkurve (*engl. retrace bzw. withdraw curve*) bezeichnet. Der erste Teil der *retrace*-Kurve verläuft nach (2.44) wieder linear. In diesem Fall geht sie wegen der Wirkung von adhäsiven Oberflächenkräften zwischen Probe und Messspitze jedoch noch über den *snap in* Punkt der *trace* Kurve hinaus. Sobald die Kraft durch die Spannung des Federbalkens die Adhäsionskraft überschreitet (Punkt (4) in der Abbildung), reißt sich die Messspitze von der Oberfläche los und kehrt auf die *zero-force line* zurück (5).

Die Hysterese zwischen der Annäherungskurve und der Wegfahrkurve wird als Adhäsions-Hysterese oder Kontakt-Hysterese (*engl. contact hysteresis*) bezeichnet. Aus der zwischen den beiden Kurven eingeschlossenen Fläche lässt sich die während eines Abtast-Zyklus in die Probe dissipierte Energie, wie in Abschnitt 2.4.3 beschrieben, ermitteln.

Aufgenommen wird bei Kraft-Abstandsmessungen die Höhe z , die aus der Position der piezoelektrischen z -Verschiebeeinheit und der Auslenkung D des Federbalkens berechnet wird. Die Kraft, mit der die Messspitze auf die Oberfläche drückt, wird aus der Auslenkung des Federbalkens D und der Kraftkonstante k des Federbalkens berechnet. Im Falle der unendlich harten Probe gilt deswegen

$$F = -kD, \quad (2.25)$$

wobei k die Steigung des linearen Anstiegs in Abbildung 2.4 beschreibt.

Für elastische Proben, in welche die Messspitze um die Tiefe δ eindringen kann, lässt sich eine Druckkraft $F(\delta)$ definieren. In diesem Fall gilt wegen $z = D + \delta$

$$F(\delta) = -k(z - \delta). \quad (2.26)$$

Der Zusammenhang zwischen $F(\delta)$ und dem Elastizitätsmodul E (auch Elastizitätskoeffizient oder Youngscher Modul genannt) der Probenoberfläche wurde für verschiedene Geometrien der Messspitzen in vielen theoretischen Arbeiten hergeleitet. Diese Modelle lassen sich, wie im Folgenden beschrieben, nutzen, um aus dem Verlauf der Kraft-Abstands-Kurven Rückschlüsse über die elastischen Eigenschaften der Probenoberfläche zu gewinnen.

2.3.1. Mechanik und Modelle

Die gemeinsame Grundidee aller Modelle zur nanomechanischen Analyse durch Kraft-Abstands-Kurven ist es, ein Modell der Wechselwirkung zwischen einer bestimmten Messspitzengeometrie und einer mehr oder weniger elastischen Oberfläche zu entwickeln, um Rückschlüsse auf den Elastizitätsmodul der Oberfläche ziehen zu können. Im Allgemeinen wird aus diesem Modell eine Funktion hergeleitet, welche sich an die Kraft-Abstands-Kurve fitten lässt. Aus den Fit-Parametern lässt sich dann der Elastizitätsmodul bestimmen.

Welches Modell für eine bestimmte Kraft-Abstands-Messung in Frage kommt, hängt von der Art der Wechselwirkung zwischen den Oberflächen der Messspitze und der Probe ab. Treten keine adhäsiven Kräfte zwischen Messspitze und Probe auf, oder sind diese Kräfte im Vergleich mit der Druckkraft vernachlässigbar, so gilt das nach Heinrich Hertz benannte Hertz-Modell.⁴⁸ Existieren aber nicht vernachlässigbare Adhäsionskräfte, so wird die Situation entweder durch das sogenannte Johnson-Kendall-Roberts (JKR)-Modell⁴⁹ beschrieben oder durch das Derjaguin-Müller-Toporov (DMT)-Modell.⁵⁰ Hierbei be-

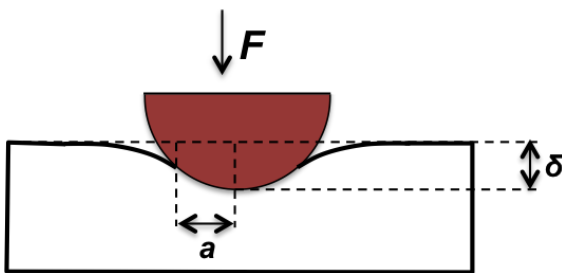


Abbildung 2.5: Grundlegende Skizze eines Indentations-Experiments mit einer sphärischen Messspitze. Wird diese mit einer Kraft F in eine flache, elastische Oberfläche eingedrückt, so dringt sie um die Eindringtiefe δ in die Probe ein, und es entsteht eine kreisförmige Kontaktfläche mit dem Kontaktradius a .

schreiben JKR- und DMT-Modell zwei unterschiedliche Situationen. Wie im Folgenden beschrieben, gilt das JKR-Modell für Messspitzen mit vergleichsweise großen Krümmungsradien und für weiche Proben mit starker adhäsiver Wechselwirkung. Im Gegensatz dazu gilt das DMT-Modell für scharfe Messspitzen und relativ harte Proben mit mittlerer bis kleiner Adhäsionskraft.¹⁸ Das später veröffentlichte Maugis-Dugdale (MD)-Modell⁵¹ kombiniert die drei oben beschriebenen Modelle und liefert eine allgemeine Beschreibung, die sämtliche

vorher beschriebenen Situationen umfasst. Der grundlegende Unterschied zwischen all diesen Modellen liegt in der Modellierung der für die Wechselwirkung aktiven Kontaktflächen. Geht man, wie in Abbildung 2.5 gezeigt, von einer sphärischen Messspitze mit Radius R aus, so kann die aktive Kontaktfläche durch den Kontaktradius a beschrieben werden.

Kontaktmechanik nach dem Hertz-Modell

Kraft-Abstands-Kurven, die sich durch das Hertz-Modell beschreiben lassen, weisen nicht das in Abbildung 2.4 bei Punkt (4) gezeigte für Adhäsion typische Minimum auf.

Das Hertz-Modell beschreibt den elastischen Eindringvorgang eines sphärischen Körpers mit dem sogenannten effektiven Elastizitätsmodul E^* , das sich aus den Elastizitätsmodulen der Probe E_p und der Messspitze E_{tip} sowie aus deren Poissonzahlen ν_p und ν_{tip} zusammensetzt¹⁸

$$\frac{1}{E^*} = \frac{3}{4} \left(\frac{1 - \nu_p^2}{E_p} + \frac{1 - \nu_{tip}^2}{E_{tip}} \right) \approx \frac{3}{4} \left(\frac{1 - \nu_p^2}{E_p} \right). \quad (2.27)$$

Da man im Allgemeinen bei Kraft-Abstands-Kurven Messspitzen benutzt, die um ein vielfaches härter sind als die Probe, kann der zweite Summand in der Klammer von (2.27) vernachlässigt werden.

Im Hertz-Modell wird zudem angenommen, dass sich die Kraft $F(\delta)$ gleichmäßig auf die kreisförmige Kontaktfläche verteilt. Dies führt zur folgenden Definition für den Kontaktradius:⁵²

$$a = \left(\frac{F R}{E^*} \right)^{\frac{1}{3}} = \sqrt{R \delta}. \quad (2.28)$$

Daraus ergibt sich für die Eindringtiefe der Messspitze

$$\delta = \frac{a^2}{R}. \quad (2.29)$$

Für die Kraft ergibt sich dann der folgende Zusammenhang, der sich auch in der ersten Zeile von Tabelle 2.1 wiederfindet:

$$F(\delta) = E^* \sqrt{R \delta^3} = \underbrace{\frac{4 E \sqrt{R}}{3 (1 - \nu_p^2)}}_{\lambda} \delta^{3/2}. \quad (2.30)$$

Über einen Fit dieser Funktion an die Kraft-Abstands-Kurve lässt sich der Parameter λ bestimmen, der bei bekannter Poissonzahl ν_p und bekanntem Radius R direkte Rückschlüsse auf den Elastizitätsmodul der Probe zulässt.^{53, 54}

Sneddons Erweiterung des Hertz-Modells

Die von Hertz⁴⁸ eingeführte theoretische Beschreibung für adhäsionsfreie Indentationsvorgänge von sphärischen Objekten wurde im Jahr 1965 von Sneddon⁵⁵ ausgeweitet. Diese mathematische Beschreibung wurde von Hörning et al. verwendet⁵⁶ und korrigiert.⁵⁷ Diese Erweiterung erlaubt es für alle gängigen achssymmetrischen Messspitzen-Geometrien und Längenskalen, Modelle zur Beschreibung des jeweiligen Eindringverhaltens zu entwickeln. Die Kraftfunktion der meisten dieser Modelle lässt sich generalisiert wie folgt beschreiben:^{18, 53}

$$F(\delta) = \lambda \delta^\beta. \quad (2.31)$$

Der in (2.26) enthaltene lineare Anteil λ vereint die Abhängigkeit des Modells vom Elastizitätsmodul der Probe E und von der Poissonzahl ν_p (*engl. poisson's ratio*) der Probe, die ein Maß für die auftretende Querkontraktion ist. Der Exponent β hingegen wird allein durch die Geometrie der Messspitze bestimmt. Für flache zylinderförmige Messspitzen gilt $\beta = 1$, ist die Messspitze kegelförmig, so gilt $\beta = 2$, und für Sphären und Paraboloiden kann $\beta = 1.5$ angenommen werden. In Tabelle 2.1 sind die Parameter λ und β für die gängigsten Geometrien zusammengefasst.

Geometrie/Modell	$\lambda (E, \nu)$	β
Kugelförmige Messspitze mit Radius R ¹⁸	$\frac{4 E \sqrt{R}}{3 (1 - \nu_p^2)}$	$\frac{3}{2}$
Scharfe, kegelförmige Messspitze mit Winkel α ⁵⁸	$\frac{2 E \tan\left(\frac{\alpha}{2}\right)}{\pi (1 - \nu_p^2)}$	2
Scharfe, pyramidenförmige Messspitze mit Winkel α ⁵⁹	$\frac{1.4906 E \tan\left(\frac{\alpha}{2}\right)}{2 (1 - \nu_p^2)}$	2
Stumpfe, pyramidenförmige Spitze mit Winkel α ⁶⁰	$\frac{E \tan\left(\frac{\alpha}{2}\right)}{\sqrt{2} (1 - \nu_p^2)}$	2

Tabelle 2.1: Zusammenfassung der Parameter der Sneddon'schen Verallgemeinerung (2.31) zur Beschreibung Hertz'scher Indentations-Experimente für die gängigsten Messspitzen-Geometrien. ^{18, 53, 55}

Johnson-Kendall-Roberts (JKR) Modell

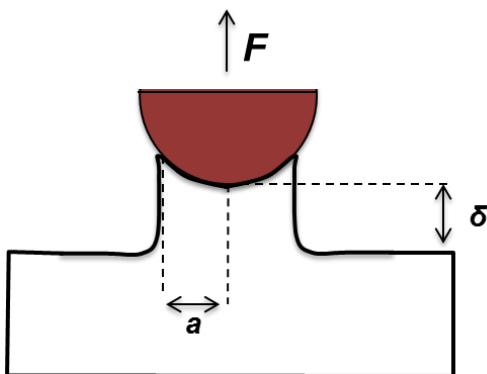


Abbildung 2.6: Im JKR-Modell wird angenommen, dass es durch die attraktive Wechselwirkung zu einer Verformung der Probe bei negativen Indentationskräften kommen kann.

Das 1971 eingeführte Johnson-Kendall-Roberts (JKR) Modell⁴⁹ ist eine Erweiterung des Hertz-Modells zur Beschreibung von Indentationsvorgängen, das zusätzlich auftretende Adhäsions-Wechselwirkung zwischen Messspitze und der Probenoberfläche berücksichtigt. In dieser Theorie werden langreichweitige Wechselwirkungen außerhalb der Kontaktregion vernachlässigt und nur kurzreichweitige attraktive Kräfte berücksichtigt, die innerhalb der Kontaktregion wirken. Es wird außerdem angenommen, dass es, wie in Abbildung 2.6 gezeigt, zu einer Verformung der Oberfläche durch adhäsive Kräfte bei negativen Indentationskräften kommen kann. Der Kontaktradius für eine sphärische

Messspitze lässt sich im JKR-Modell durch (2.32) beschreiben

$$a_{jkr} = \left(\frac{R}{E^*} \left(F + 3\pi R\omega + \sqrt{6\pi R\omega F + (3\pi R\omega)^2} \right) \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (2.32)$$

Der Parameter ω in dieser Gleichung ist in diesem Fall die Adhäsionsarbeit (*engl. work of adhesion*) und reguliert den Einfluss der Adhäsion auf den Eindringvorgang. Für den adhäsionsfreien Fall mit $\omega = 0$ ergibt sich der gleiche Kontaktradius wie im Hertz-Modell (2.28). Im kraftfreien Fall $F = 0$ sind die Messspitze und die Probe aber immer noch über eine Fläche mit dem Radius

$$a_0 = \left(\frac{6\pi R^2 \omega}{E^*} \right) \quad (2.33)$$

verbunden und haften aneinander. Zieht man mit negativer Druckkraft $F < 0$ weiter, so haftet die Oberfläche so lange an der Spitze, bis die Adhäsionskraft F_{adh} erreicht wird und die Oberfläche sich von der Messspitze ablöst. Dies geschieht bei

$$F_{adh(jkr)} = -\frac{3}{2}\pi\omega R. \quad (2.34)$$

Die Eindringtiefe δ lässt sich demnach ähnlich wie im Hertz-Modell als Funktion des Kontaktradius a_{jkr} und somit durch (2.32) als Funktion der Druckkraft F wie folgt beschreiben:⁵⁴

$$\delta = \frac{a_{jkr}^2}{R} - \frac{4}{3} \left(\frac{a_{jkr} F_{adh(jkr)}}{RE^*} \right)^{\frac{1}{2}}. \quad (2.35)$$

In der Auswertung lässt sich der in (2.35) aufgeführte Zusammenhang, wie im vorhergehenden Abschnitt für das Hertz-Modell beschrieben, zur Berechnung der elastischen Probeneigenschaften nutzen.^{53, 54} Die in Gleichung (2.34) beschriebene Adhäsionskraft ist der Grund für die in Abbildung 2.4 gezeigte Hysterese zwischen Annäherungskurve und Wegfahrkurve.

Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modell

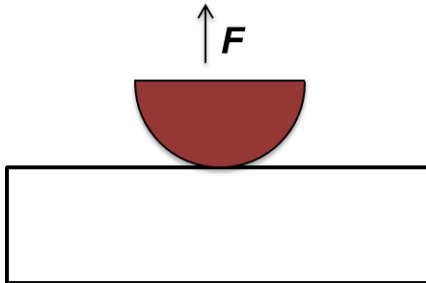


Abbildung 2.7: Im DMT-Modell wird die Oberfläche als so fest angesehen, dass sie sich nicht durch die attraktive Wechselwirkung verformen kann.

Das Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modell⁵⁰ berücksichtigt nur attraktive Adhäsionskräfte, die außerhalb der Kontaktfläche auftreten. Die auftretende Verformung ist zwar die gleiche wie im Hertz-Modell, der Kontaktradius a_{dmt} wird jedoch um eine ringförmige Fläche um den hertzschen Kontaktradius erweitert. Damit ergibt sich für das DMT-Modell die folgende Beschreibung:¹⁸

$$a_{dmt} = \left(\frac{RF}{E^*} + \frac{2\pi\omega R^2}{E^*} \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (2.36)$$

In dieser Gleichung entspricht der erste Summand dem Kontaktradius aus dem Hertz-Modell, und der zweite modelliert die zusätzliche adhäsive Wechselwirkung. Wie im oben beschriebenen JKR-Modell ist ω die Adhäsionsarbeit, die den Anteil der Adhäsion reguliert. Für die Eindringtiefe δ ergibt sich daher

$$\delta = \frac{a_{dmt}^2}{R} = \left(\frac{(F + F_{adh(dmt)})^2}{E^{*2} R} \right)^{\frac{2}{3}}, \quad (2.37)$$

wobei die Adhäsionskraft $F_{adh(dmt)}$ der negativen Kraft beim Abreißen des Kontakts der *retrace*-Kurve (siehe Abbildung 2.4), entspricht. Sie ist in diesem Fall definiert als

$$F_{adh(dmt)} = -2\pi\omega R. \quad (2.38)$$

Wie schon für das Hertz-Modell und das JPK-Modell beschrieben, kann der in (2.37) und (2.38) beschriebene Zusammenhang auch hier genutzt werden, um durch einen Fit die Elastizität der vermessenen Probe zu ermitteln.^{53, 54}

Maugis-Dugdale (MD) Modell

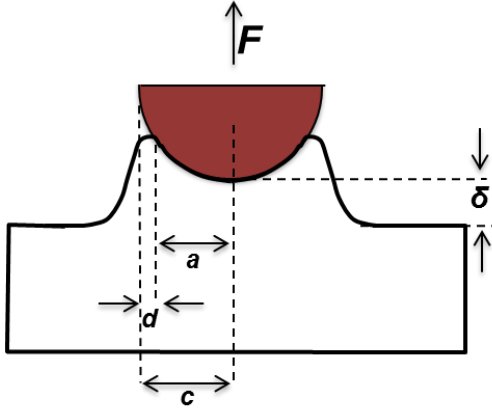


Abbildung 2.8: Skizze zum MD-Modell. Dieses Modell unterscheidet zwischen dem Kontaktradius a und dem Radius des für die Adhäsion verantwortlichen Bereichs c .

Das 1992 veröffentlichte Maugis-Dugdale (MD) Modell liefert eine allgemeinere Beschreibung für das Indentations-Experiment. Es erlaubt die Analyse von Kraft-Abstands-Kurven mit und ohne attraktiver Wechselwirkung und berücksichtigt alle Effekte, die im DMT-Modell und im JKR-Modell beschrieben werden. Genau genommen können die im DMT-Modell und im JKR-Modell beschriebenen Fälle als Extremsituation des MD-Modells angesehen werden. In seiner theoretischen Arbeit⁶¹ leitete Maugis unter Verwendung des sogenannten Dugdale-Potentials⁶² eine analytische Beschreibung für ein Modell her, das einen Übergang zwischen JKR- und DMT-Modell beschreibt. Der Kontrollparameter λ dieses Übergangs wird darin definiert durch

$$\lambda = C_m \left(\frac{R\omega^2}{\pi E^{*2}} \right)^{\frac{1}{3}}. \quad (2.39)$$

C_m ist in diesem Zusammenhang ein Kontrollparameter für die atomare Größenordnung. Zur Vereinfachung wurden für die Modellbeschreibung dimensionslose Parameter für die Eindringtiefe $\bar{\delta}$, die Kraft \bar{F} und den Kontaktradius \bar{a} definiert¹⁸

$$\bar{F} = \frac{F}{\pi\omega R}, \quad \bar{\delta} = \frac{\delta}{\left(\frac{\pi^2 \omega^2 R}{E^{*2}} \right)^{1/3}}, \quad \bar{a} = \frac{a}{\left(\frac{\pi\omega R^2}{E^{*2}} \right)^{1/3}}. \quad (2.40)$$

Damit lassen sich jetzt die folgenden Modellfunktionen für die Eindringtiefe $\bar{\delta}$ und die Kraft \bar{F} herleiten⁶¹

$$\bar{\delta} = \bar{A}^2 - \frac{4}{3} \lambda \bar{A} \sqrt{m^2 - 1} \quad (2.41)$$

$$\bar{F} = \bar{A}^3 - \lambda \bar{A}^2 \left(\sqrt{m^2 - 1} + m^2 \arctan \sqrt{m^2 - 1} \right). \quad (2.42)$$

Der Parameter m kann hierbei für ein gegebenes λ und aus dem dimensionslosen Kontaktradius über die Griffith-Relation

$$\frac{\lambda \bar{A}^2}{2} \left[\sqrt{m^2 - 1} + (m^2 - 1) \arctan \sqrt{m^2 - 1} \right] \quad (2.43)$$

$$+ \frac{4\pi^2 \bar{A}^2}{3} \left[1 - m + \sqrt{m^2 - 1} \arctan \sqrt{m^2 - 1} \right] = 1$$

berechnet werden. Der Parameter m beschreibt im MD-Modell das Verhältnis zwischen dem Radius des für die Adhäsion verantwortlichen Bereichs c und dem Kontaktradius a (siehe Abbildung 2.5). Die in (2.41) und (2.42) aufgeführten Modellgleichungen konvergieren, wie von Kappl et al.⁶³ beschrieben, für große λ gegen die Beschreibung des JKR-Modells, und für kleine λ ergibt sich die Beschreibung des DMT-Modells.

2.4. Betriebsarten

Seit der Entwicklung der Rasterkraftmikroskopie¹ wurde eine Vielzahl von unterschiedlichen Betriebsmodi für verschiedenste Anforderungen und zur Vermessung von verschiedenen Oberflächeneigenschaften entwickelt.¹⁸ Basierend auf der Ansteuerung der piezoelektrischen Elemente und auf der Kontrolle durch den Regelmechanismus lassen sich die verschiedenen Betriebsarten in statische und dynamische Betriebsmodi unterteilen. Bei statischen Messverfahren wird der Federbalken mit der Messspitze so lange an die Probe angenähert, bis die (in Abschnitt 2.2 beschriebenen) wechselwirkenden Kräfte eine ausreichende statische Auslenkung des Federbalkens bewirken. Bei statischen Messungen können deswegen aus der gemessenen Auslenkung des Federbalkens direkt Rückschlüsse auf den Betrag der wechselwirkenden Kräfte gezogen werden (siehe Gleichung (2.44)). Im Gegensatz dazu wird der Federbalken bei dynamischen Messungen meist mit einem zusätzlichen Piezoelement zum Schwingen gebracht. Die Frequenz dieser Schwingung ist in den meisten Fällen die Eigenfrequenz des Federbalkens oder ein ganzzahliges Vielfaches dieser Frequenz. Die Kräfte, die bei der Annäherung der Messspitze an die Probe wirken, führen in diesem Fall zu einer Veränderung der Resonanzfrequenz sowie zu Änderungen der Schwingungsamplitude und der Phase der oszillatorischen Bewegung.¹⁹ Aus diesem Grund werden diese Systemgrößen bei dynamischen Methoden als Messgrößen und zur Kontrolle des Rückkopplungs-Regelkreises genutzt.

2.4.1. Kinematik statischer Methoden

Zu den statischen Betriebsarten zählt zum Beispiel der sogenannte Kontaktmodus (*engl. contact mode*), bei dem die Messspitze von der lateralen Verschiebeeinheit in ständigem Kontakt mit der Probe über die Oberfläche geführt wird. Die Kraft F , die durch die Messspitze auf die Probe wirkt, lässt sich nach dem Hookeschen Gesetz (2.44) aus der Auslenkung des Federbalkens gegenüber seiner Nullposition D und der Federkonstanten k berechnen:

$$F = -kD. \quad (2.44)$$

Bei Messungen im Kontaktmodus kann man entweder die Kraft (*constant force mode*) oder die Höhe (*constant height mode*) der Messspitze durch den Rückkopplungs-Regelkreis konstant halten. Im *constant force mode* definiert der Anwender über die Steuersoftware des Rasterkraftmikroskops vor Beginn der Messung den sogenannten *set point*. Dieser Parameter beschreibt die konstant gehaltene Kraft, welche während der kompletten Messung vom Rückkopplungs-Regelkreis über die z-Verschiebeeinheit eingestellt wird. Aus den eingestellten Höhen der z-Verschiebeeinheit für die einzelnen xy-Positionen lässt sich dann die Topographie der Probenoberfläche mit sehr hoher lateraler

und vertikaler Präzision vermessen. Nach abgeschlossener Messung werden die z-Positionen an jedem Gitterpunkt zu einem Topographiebild (*engl. topography image*) zusammengefasst, und die gemessenen Federbalkenauslenkungen ergeben ein Ablenkungsbild (*engl. deflection image*). Bei einer idealen Messung im *constant force mode* enthält das Topographiebild ein Abbild der Probentopographie, während im *deflection image* alle Pixel den gleichen Wert enthalten. Je mehr Kontrast das Ablenkungsbild enthält, desto mehr Fehler sind im Topographiebild zu erwarten, da dies ein Zeichen dafür ist, dass der Rückkopplungs-Regelkreis Abweichungen in der Auslenkung des Federbalkens unzureichend kompensiert hat.⁶⁴

Im sogenannten *constant height mode* wird der Rückkopplungs-Regelkreis deaktiviert, so dass die z-Position des Federbalkens konstant gehalten wird. In diesem Modus kann sich der Abstand zwischen Messspitze und Probenoberfläche durch die wirkenden Wechselwirkungskräfte ändern. Für jede Position auf einem xy-Raster der Probe wird jetzt die Auslenkung des Federbalkens aus dem Signal der PSD (vergleiche Abbildung 2.1) ausgewertet. Für die Berechnung von maßhaltigen Topographiebildern aus Messungen im *constant height mode* ist eine genaue Kalibration der Federkonstanten k äußerst wichtig. Eine weit verbreitete Methode zur genauen Bestimmung der individuellen Federkonstante von AFM Federbalken ist die sogenannte Sader-Methode.^{65, 66} Das Grundprinzip dieser Kalibration ist es, die Federkonstante aus der Federbalkengeometrie und dem Qualitätsfaktor Q (vergleiche (2.58)) zu berechnen. Der Qualitätsfaktor kann hierbei einfach mit dem Rasterkraftmikroskop selbst ermittelt werden, indem man die Halbwertsbreite der Oszillation mit der anregenden Frequenz vergleicht.⁶⁴

Lateral Force Microscopy (LFM)

Ein weiterer statischer Betriebsmodus, in dem mit Rasterkraftmikroskopen Oberflächeneigenschaften vermessen werden können, ist der Querkraftmodus (*engl. lateral force mode* bzw. *lateral force microscopy* (LFM)). Generell lassen sich LFM-Methoden anhand der Scan-Richtung in zwei Klassen unterteilen, je nachdem ob die Messspitze parallel oder senkrecht zur langen Achse des Federbalkens über die Probe geführt wird. Um die von Bhushan¹⁹ beschriebenen Hysteresis-Effekte der parallelen LFM-Methoden zu umgehen, wurde in den im Rahmen dieser Arbeit aufgenommenen LFM-Messungen ausschließlich senkrecht zum Federbalken gescannt. Bei dieser Art der LFM-Messungen wird das differentielle Signal des rechten und des linken Bereichs der in Abschnitt 2.1 beschriebenen PSD analysiert, um die laterale Verdrehung des Federbalkens zu bestimmen. Misst man diese Verdrehung, während man mit der Messspitze bei einer konstanten Kraft F_0 über die Probe fährt, so wird die Verdrehung durch die Reibungskraft (*engl. friction force*) zwischen der Spitze und der Probenoberfläche beeinflusst. Aus diesem Grund wird diese Messtechnik oft als Reibungskraft-Mikroskopie (*engl. friction force microscopy*) (FFM) bezeichnet.⁶⁴ Dabei ist es wichtig zu berücksichtigen, dass die laterale Verbiegung des Federbalkens mit der vertikalen Verformung gekoppelt ist und nicht nur durch die Oberflächenreibung, sondern auch durch topographische Effekte, wie zum Beispiel die lokale Steigung der Oberfläche, beeinflusst werden kann.^{64, 67, 68} Eine gängige Methode der Separation des durch die Reibungskraft verursachten Signalanteils ist die Auswertung von zwei Scans, die in entgegengesetzter Richtung aufgenommen wurden. Wenn man nun, wie in Abbildung 2.9 gezeigt, ein Signal $FFM(x)$ in x-Richtung und ein

Signal $FFM(-x)$ in entgegengesetzter Richtung aufnimmt, so lässt sich der durch Oberflächenreibung verursachte Signalanteil FFM^* abspalten.

$$FFM(x) = FFM^*(x) + FFM^t(x) \quad (2.45)$$

Der zweite Summand in (2.45) ist der durch die Oberflächentopographie verursachte Anteil am *lateral force* Signal $FFM^t(x)$. Da sich, wie in Abbildung 2.9 gezeigt, das Vorzeichen von $FFM^*(x)$ bei einem Richtungswechsel umkehrt, während sich $FFM^t(x)$ nicht wesentlich ändert, kann das Signal $FFM(x)$ wie folgt separiert werden:¹⁹

$$2 FFM^t(x) = FFM(x) + FFM(-x), \quad (2.46)$$

$$2 FFM^*(x) = FFM(x) - FFM(-x). \quad (2.47)$$

Diese Separation ist für die Auswertung von LFM-Messungen zwingend notwendig, da es unter Umständen zu einem vergleichsweise großen Einfluss der Topographie $FFM^t(x)$ kommen kann.¹⁹

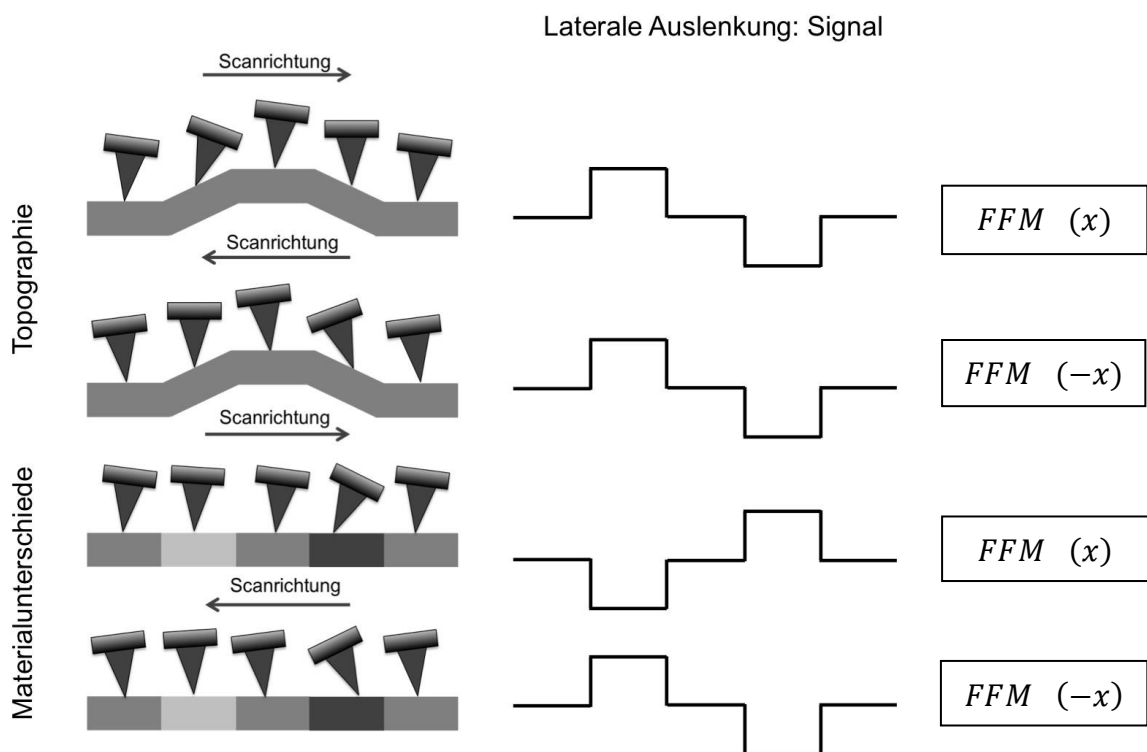


Abbildung 2.9: Skizze zur Verdeutlichung der Einflüsse von topographischen Strukturen und Änderungen der Reibung auf die laterale Auslenkung des Federbalkens.⁶⁴

Quantitativ lässt sich der Reibungskoeffizient μ_L über den Zusammenhang

$$F_L = \mu_L F_N \quad (2.48)$$

aus der Normalkraft F_N und der lateralen Kraft F_L bestimmen. Die Normalkraft ergibt sich wegen (2.44) aus der vertikalen Auslenkung des Federbalkens aus seiner Nullposition D und der (vertikalen) Federkonstanten k . Für die Bestimmung der lateralen Kraft ist eine Kalibration der lateralen Federkonstante k_L sowie der lateralen Sensitivität s_{lat} des Messsystems erforderlich.^{69, 70}

Für eine generelle Formulierung einer Kraftgleichung lassen sich k_L und s_{lat} zum sogenannten lateralen Kraftfaktor $\alpha_L = k_L/s_L$ zusammenfassen, um so die laterale Kraft F_L als Funktion des horizontalen differentiellen (L-R)-Spannungssignals ΔV_L zwischen dem linken und dem rechten Bereich des PSD ausdrücken zu können (siehe (2.49))

$$F_L = \alpha_L \times \Delta V_L. \quad (2.49)$$

Die laterale Federkonstante eines rechteckigen Federbalkens kann dabei durch geometrische Überlegungen mit der Drehmomentkonstante κ' und der Länge des Hebels h beschrieben werden. Diese Länge entspricht in diesem Fall der Länge der Messspitze bzw. der Entfernung zwischen der Drehachse und dem Berührungspunkt mit dem zu vermessenden Objekt⁷⁰

$$k_L = \frac{\kappa'}{h^2} = \frac{Gt^3w}{3Lh}. \quad (2.50)$$

In dieser Gleichung steht G für den Schermodul des Federbalkens, t ist seine Dicke, w ist die Breite und L ist die Federbalkenlänge, gemessen vom Aufhängepunkt des Federbalkens bis zur Position der Messspitze.

Unter Berücksichtigung von (2.49) lässt sich (2.50) auch als

$$F_L = \frac{Gt^3w}{3Lhs_L} \times \Delta V_L \quad (2.51)$$

schreiben.

Die im Rahmen dieser Dissertation benutzte Kalibrationsmethode für α_L basiert auf den von Cannara et al.⁷⁰ beschriebenen Methoden zur Kalibration von LFM-Experimenten.

Zur Bestimmung der lateralen Sensitivität wird die Messspitze in lateraler Richtung, wie in ⁷⁰ beschrieben, gegen eine feste Kante gedrückt und das differentielle PSD-Signal als Funktion der lateralen Position aufgezeichnet. Aus der Steigung dieses Graphen lässt sich so die laterale Sensitivität s_L bestimmen. Die laterale Federkonstante k_L wurde über den durch Gleichung (2.50) beschriebenen Zusammenhang bestimmt. Dazu wurden die Federbalken mitsamt sphärischen Messspitzen durch Aufnahmen mit einem Rasterelektronenmikroskop geometrisch charakterisiert, und die Parameter L , h , t und w genau bestimmt.

2.4.2. Kinematik dynamischer Methoden

Im Gegensatz zu den statischen Methoden, bei denen man aus der Federbalkenauslenkung direkt auf den Betrag der wechselwirkenden Kräfte zwischen Probe und Messspitze schließen kann, ist für eine Interpretation von dynamischen Messungen ein genaues Verständnis der Schwingungsdynamik nötig. Damit ist es möglich, aus der Schwingungsamplitude, der Frequenz und der Phase quantitative Informationen zu extrahieren.

Nimmt man eine Oszillation der Messspitze mit einer Amplitude an, welche klein ist verglichen mit der Reichweite des Kraftfeldes, in dem die Messspitze oszilliert, so lässt sich das System, wie in

Abbildung 2.10 zeigt, als Schwingung einer Masse mit zwei gekoppelten Federn modellieren. Dies ist möglich, weil hier der Gradient $\partial F_{ts}/\partial z$ der Wechselwirkung zwischen den Umkehrpunkten als konstant angekommen werden kann, was es ermöglicht, die Kraft der Wechselwirkung durch eine einfache Feder mit einer eigenen Federkonstante k_{ts} zu modellieren. Wie von Bhushan et al.¹⁹ beschrieben, ist es dabei wichtig zu berücksichtigen, dass k_{ts} nur innerhalb der Umkehrpunkte als konstant angenommen werden kann. Ändert man den Abstand zwischen Messspitze und Probe über die z-Verschiebeeinheit, so wird sich auch k_{ts} durch die neue Position im Kraftfeld der Probe ändern.

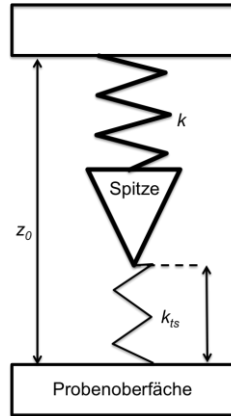


Abbildung 2.10: Vereinfachtes Modell zur Beschreibung der oszillatorischen Bewegung der Messspitze im Kraftfeld der Probe. Dabei schwingt die Messspitze an einer Feder mit der Federkonstante k im Kraftfeld der Probe, das durch die Federkonstante k_{ts} beschrieben wird.

Die Federkonstante des Federbalkens k und die Federkonstante des Kraftfeldes lassen sich jetzt wie folgt zu einer einzigen Federkonstante k_{total} zusammenfassen:

$$k_{total} = k + k_{ts} = k - \frac{\partial F_{ts}}{\partial z}. \quad (2.52)$$

Vernachlässigt man zunächst alle möglichen Reibungs- und Dämpfungseffekte, so lässt sich das System als harmonischer Oszillator beschreiben. Aus dieser Betrachtung ergibt sich dann direkt sowohl die Resonanzfrequenz des ungestörten Systems ω_0 (ohne Wechselwirkung $\partial F_{ts}/\partial z = 0$) als auch die Kreisfrequenz für eine Kraft mit konstantem Gradienten ω :

$$\omega^2 = (\omega_0 + \Delta\omega)^2 = \frac{k_{total}}{m^*}. \quad (2.53)$$

In dieser Gleichung beschreibt die Variable $\Delta\omega$ die Frequenzverschiebung der Oszillation durch den Einfluss der Probe, und m^* ist die effektive Masse des harmonischen Oszillators. Unter der Annahme, dass die Frequenzverschiebung $\Delta\omega$ klein ist gegenüber der Resonanzfrequenz, lässt sich eine direkte Proportionalität zwischen dem Gradienten der Wechselwirkung und der Frequenzverschiebung herleiten¹⁹

$$\frac{\Delta\omega}{\omega_0} \cong -\frac{1}{k} \frac{\partial F_{ts}}{\partial z}. \quad (2.54)$$

Aufgrund verschiedenster Reibungs- und Dämpfungseffekte muss das System für eine genauere Betrachtung als erzwungene gedämpfte Schwingung modelliert werden. Dabei kann man in guter Näherung von einer sinusförmigen Bewegung $z_d(t)$ des antreibenden piezoelektrischen Elementes ausgehen

$$z_d(t) = A_d \cos(\omega t). \quad (2.55)$$

Unter der Annahme einer geschwindigkeitsabhängigen Dämpfung des Systems mit einer gegen die Bewegungsrichtung wirkenden Kraft F_D

$$F_D = -\alpha \dot{z}_d(t), \quad (2.56)$$

lässt sich so für das in

Abbildung 2.10 gezeigte Modell die folgende newtonsche Bewegungsgleichung aufstellen:

$$m^* \ddot{z}(t) = F_D - k_{total}(z(t) - z_d(t)). \quad (2.57)$$

In dieser Gleichung beschreibt m^* die effektive Masse aus (2.53), k_{total} ist die kombinierte Federkonstante aus (2.52), und F_D repräsentiert die Dämpfung (2.56) des Systems. Für die folgende Betrachtung definieren wir analog zu (2.53) die Resonanzfrequenz der erzwungenen gedämpften Schwingung als das Verhältnis aus Federkonstante und effektiver Masse ($\omega_0 = k_{total}/m^*$). Wie von Bhushan¹⁹ beschrieben, lässt sich die Lösung dieser Bewegungsgleichung intuitiver herleiten, wenn man für das schwingende System einen sogenannten Qualitätsfaktor (Q-Faktor)

$$Q = \frac{m^* \omega_0}{\alpha} \quad (2.58)$$

eingführt. Diese Größe ist proportional zum Verhältnis aus Gesamtenergie und dem dämpfungsbedingten Energieverlust pro Schwingung. Die resultierende Differentialgleichung lautet dann

$$\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q} \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) - A_d \omega_0^2 \cos(\omega t) = 0. \quad (2.59)$$

Die Lösung der in (2.59) beschriebenen inhomogenen Differentialgleichung ist die Summe der Lösungen einer allgemeinen homogenen Differentialgleichung ($A_d = 0$) und einer speziellen inhomogenen Lösung.⁷¹

Die allgemeine Lösung der homogenen Differenzialgleichung lautet

$$z_1(t) = A \cos(\omega t + \psi) \quad (2.60)$$

und die Lösung der speziellen Differentialgleichung ist dann die folgende exponentiell abfallende Funktion, die den zeitlichen Verlauf des Einschwingvorgangs beschreibt:

$$z_2(t) = A e^{-\frac{\omega_0 t}{2Q}} \sin(\omega_0 t + \psi). \quad (2.61)$$

Für die Amplitude A und die Phase ψ der resultierenden Oszillation ergeben sich dann die Zusammenhänge

$$A = \frac{A_d Q \omega_0^2}{\sqrt{\omega^2 \omega_0^2 + Q^2 (\omega_0^2 - \omega^2)^2}} \quad (2.62)$$

und

$$\tan(\psi) = \frac{\omega \omega_0}{Q (\omega_0^2 - \omega^2)}. \quad (2.63)$$

Das Amplitudensignal A enthält in erster Linie topographische Oberflächeninformationen, während das Phasensignal ψ weitere Rückschlüsse auf die Wechselwirkung zwischen Messspitze und Probenoberfläche zulässt. Beide Signale können als Pixelwerte in ein sogenanntes Amplitudenbild (Abbildung 2.11 (b)) und ein Phasenbild (Abbildung 2.11 (c)) geschrieben werden, um laterale Oberflächenstrukturen zu visualisieren oder statistische Auswertungen auf einzelnen Regionen im Bild zu ermöglichen. Abbildung 2.11 zeigt exemplarisch den Amplituden- bzw. Phasenverlauf der gedämpften Oszillation des Federbalkens bei dynamischen Rasterkraftmikroskopie-Messungen.

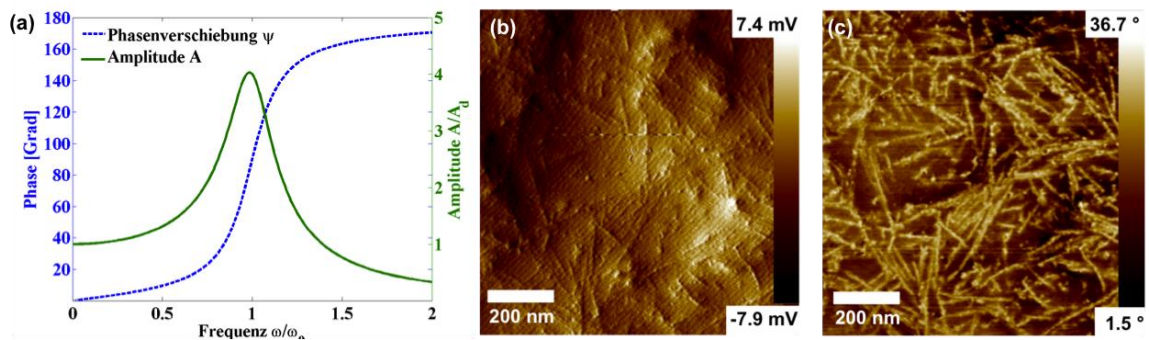


Abbildung 2.11: (a) Phasen bzw. Amplitudenverlauf der gedämpften Oszillation des Federbalkens bei dynamischen AFM-Messungen. Dabei wurde die Frequenz mit der Resonanzfrequenz normiert und die Amplitude mit der Amplitude der antreibenden Piezoschwingung. Der Q Faktor ist in diesem Fall gleich 4. (b) Amplitudenbild einer im Tapping-Modus vermessenen elastomeren Polypropylen-Oberfläche und (c) Phasenbild

Tapping-Modus

Ein weitverbreiteter dynamischer Messmodus, in dem Oberflächen mit Rasterkraftmikroskopen abgebildet werden können, ist der *Tapping-Modus* (engl. *tapping mode*). Für Messungen im *Tapping-Modus* wird der Federbalken mit Hilfe des Piezo-Antriebs angeregt, so dass er mit einer Frequenz schwingt, die in etwa seiner Eigenfrequenz entspricht. Typische Oszillationsfrequenzen liegen hier im Bereich zwischen 70 Hz und 400 Hz.¹⁹ Die Schwingungsamplitude des Federbalkens wird dabei durch den in Abschnitt 2.1 beschriebenen Rückkopplungs-Regelkreis konstant auf einem Wert gehalten, indem der Abstand zur Probe ständig angepasst wird. Dabei ist der Abstand so gering, dass die Messspitze die Probe am unteren Umkehrpunkt der Oszillation kurz berührt. Durch dieses kurze Antippen (engl. *tapping*) der Probe können auch kurzreichweitige Kräfte vermessen werden, und die Probenoberfläche kann (ähnlich wie im Kontaktmodus) mit sehr hoher Präzision abgetastet werden. Im Gegensatz zum Kontaktmodus wirken im *Tapping-Modus* keine großen lateralen Scherkräfte auf die Oberfläche, welche das Ergebnis negativ beeinflussen oder zu einer Beschädigung der Probe oder der Messspitze führen

können. Während die Probe lateral abgescannt wird, kann aus den durch den Regelkreis eingestellten Abständen die Oberflächentopographie abgebildet werden.^{19, 72}

Wegen der großen Schwingungsamplituden von üblicherweise zwischen 20 nm und 100 nm müssen in der quantitativen Analyse der wechselwirkenden Kräfte sowohl die in Abbildung 2.2 gezeigten langreichweitigen Effekte wie zum Beispiel Van-der-Waals-Kräfte, als auch kurzreichweitige Effekte wie zum Beispiel die Pauli-Repulsion berücksichtigt werden.⁷³ Die im vorherigen Absatz beschriebene Phasenverschiebung zwischen der antreibenden Oszillation und der Schwingung des Federbalkens hängt also sowohl von den langreichweitig wirkenden Wechselwirkungen als auch von der Energiedissipation durch kurzreichweitige Kräfte, die bei der Berührung mit der Oberfläche auftreten, ab. Als Wechselwirkungskraft zwischen Messspitze und Probenoberfläche F_{ts} muss deswegen die Überlagerung dieser Kräfte als Funktion des Abstands in (2.52) eingesetzt werden. Das Wechselwirkungspotential hat somit einen direkten Einfluss auf die newtonsche Bewegungsgleichung (2.59). Man erhält zusätzlich zu den Topographie-Informationen eine Phasenverschiebung der Schwingung des Federbalkens, relativ zur anregenden Schwingung (vergleiche (2.63)). Dieses Signal liefert wertvolle Informationen über die während der Aufnahme dissipierte Energie und wird als Phasenbild bezeichnet.^{73, 74}

2.4.3. Peak-Force-Quantitative-Nanomechanical-Mapping

Ein neuartiges Messverfahren, das die Vorteile mehrerer Betriebsarten der Rasterkraftmikroskopie kombiniert, ist das *Peak Force Quantitative Nanomechanical Mapping* (QNM). In diesem Modus wird die Probe, ähnlich wie im *Tapping*-Modus, in jeder Periode der Oszillation nur einmal kurz berührt, was den destruktiven Einfluss von lateralen Scherkräften, wie sie im Kontaktmodus auftreten, eliminiert. Im Gegensatz zum *Tapping*-Modus ist die Frequenz der oszillatorischen Bewegung des Federbalkens, der auch in diesem Fall durch einen Piezoantrieb sinusförmig angeregt wird, weit unterhalb der Eigenschwingfrequenz des Federbalkens. Dadurch, dass der Federbalken nicht resonant schwingt, werden filternde Resonanzeffekte im aufgenommenen Kraftsignal verhindert.⁶ Diese Messtechnik ermöglicht es daher, kurzreichweitige Wechselwirkungen mit einer Sensitivität von unter 10^{-12} N auf einer Ångström-Skala lateral aufzulösen. Dabei werden die Wechselwirkungsinformationen im gleichen Pixelgitter aufgenommen wie die topographische Information.⁷⁵ Ein weiterer Unterschied zum *Tapping*-Modus ist, dass im *PeakForce QNM*-Modus nicht die Amplitude der Federbalkenschwingung durch den Rückkopplungs-Regelkreis konstant gehalten wird, sondern die während einer Periode ausgeübte maximale Kraft (*engl. peak force*). Dies ermöglicht eine wesentlich feinere Kontrolle der auf die Probe ausgeübten Kraft, was dieses Messverfahren für biologische und physiologische Anwendung hochinteressant macht.⁷⁶⁻⁷⁹ Dies liegt auch an dem äußerst großen Elastizitätsbereich (Young Modul zwischen etwa 700 kPa und 70 GPa), der bei geeigneter Wahl von Federbalken und Messspitze mit dieser Technik gemessen werden kann.⁶ Beim Abscannen der Probe wird für jeden Berührungspunkt neben der topographischen Information eine Kraftkurve aufgenommen, die quantitativ ausgewertet werden kann und so Rückschlüsse auf die örtliche Verteilung von elastischen Oberflächeneigenschaften zulässt.

Eine typische *PeakForce QNM*-Messkurve beinhaltet, wie in Abbildung 2.12 (a) gezeigt, ein Kraftsignal als Funktion der Zeit. Der Kraftverlauf zwischen (A) und (E) beschreibt die während einer Schwingungsperiode auftretenden Kräfte zwischen Messspitze und Oberfläche. Zu Beginn eines jeden Zyklus befindet sich die Messspitze außerhalb des Einflussbereiches der Probe in einem definierten Abstand über der Probenoberfläche. Durch die sinusförmige, treibende Bewegung des z-Piezo wird die Spitze im weiteren Schwingungsverlauf der Probe angenähert, bis sie schließlich bei (B) die Oberfläche der Probe berührt. Nach dem Kontakt erhöht sich der Druck auf die Probe, bis die periodische Antriebsbewegung in (C), am sogenannten *set point*, ihr Maximum erreicht. Die Kraft an diesem Punkt wird vom Rückkopplungs-Regelkreis konstant gehalten. Aus der z-Anpassung des Regelkreises beim Scannen wird dabei die Probentopographie bestimmt.⁷⁹ Nach dem Erreichen der *peak force* im *set point* (C) verringert der z-Piezo die Kraft bis hin zum negativen Tiefpunkt. Physikalisch bedeutet diese negative Kraft, dass die Messspitze an der Oberfläche haftet und Kraft aufgewendet werden muss, um sie zu lösen. Die maximale Zugkraft, also das Minimum der Rückzugskurve repräsentiert, wie in Abbildung 2.12 (b) gezeigt, die Adhäsionskraft zwischen Probenoberfläche und Probe. Nach dem Loslösen der Messspitze geht die Kurve schließlich bei (E) wieder in den kraftfreien Bereich.

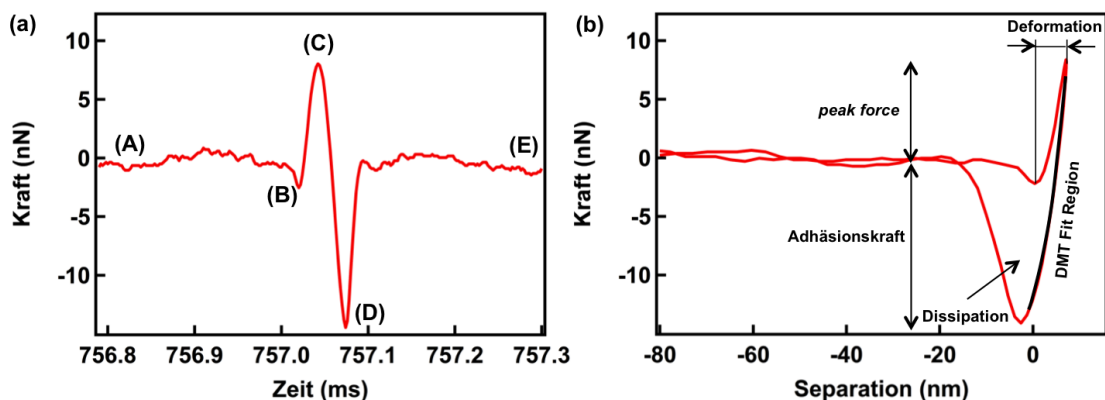


Abbildung 2.12: (a) Kraft- vs. Zeit-Signal, wie es typischerweise in *PeakForce QNM*-Messungen aufgenommen wird. Die Teile (A), (B) und (C) der Kurve gehören zur Annäherungskurve und (D) und (E) zur Wegfahrkurve. (b) Mit Hilfe der bekannten periodischen Bewegung der Messspitze lässt sich die Kraft-Zeit Kurve in eine Kraft-Abstands-Kurve umwandeln.

Um aus der Kraft-Zeit-Kurve in Abbildung 2.12 (b) eine Kraft-Abstands-Kurve zu erhalten, kann die genau definierte Position des z-Piezoelements mit der Auslenkung des Federbalkens zu einem Separationswert kombiniert werden. Die so generierten Signale können dann mit Methoden aus der Kraftspektroskopie (vergleiche Abschnitt 2.3), wie im Folgenden beschrieben, analysiert werden.

Quantitative Analyse

Um verlässliche, quantitative Materialeigenschaften ermitteln zu können, ist es bei *PeakForce QNM*-Messungen zwingend erforderlich, den Federbalken inklusive Messspitze vor jeder Messung hinsichtlich der Federkonstante k und dem Messspitzenradius R zu kalibrieren. Für die Kalibration kann man nun zwei Strategien verfolgen. In der sogenannten relativen Kalibration nutzt man Referenzproben mit definierten elastischen

Eigenschaften, um so unbekannte Parameter wie die Federkonstante und den Spitzenradius der Messspitze abzuschätzen. Um aussagekräftige Kraft-Abstands-Kurven aufnehmen zu können, ist es außerdem wichtig, die Kraftkonstante des Federbalkens an die erwartete Elastizität der Probe anzupassen. Ist die Steifigkeit der Probe unbekannt, kann es sein, dass man die Federkonstante in mehreren Vorabmessungen iterativ dem Elastizitätsmodul der Probe anpassen muss.⁷⁵ Im Gegensatz dazu vermisst man bei der absoluten Kalibration den Spitzenradius und die Federkonstante manuell.⁶

Elastizitätsmodul

Aus den in jedem lateralen Messpunkt enthaltenen Kraft-Abstands-Daten lässt sich mit Hilfe eines geeigneten Modells mit den in Abschnitt 2.3 beschriebenen mathematischen Methoden der Elastizitätsmodul des elastischen Eindringvorgangs ermitteln. Für vergleichsweise scharfe Messspitzen und relativ kleine Adhäsionskräfte wird zur Beschreibung des Eindringens der Messspitze in die Probenoberfläche das Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modell⁵⁰ verwendet. Für die Beschreibung der Kraft als Funktion des Abstandes (bzw. der Eindringtiefe δ) ergibt sich dabei aus (2.30) und (2.37) für eine kugelförmige Messspitze mit Radius R der folgende Zusammenhang:

$$F - F_{adh(dmt)} = \frac{4 E \sqrt{R}}{3 (1 - \nu_p^2)} \delta^{3/2} = \frac{3}{4} E^* \sqrt{R} \delta^3. \quad (2.64)$$

Sind nun der Radius und die Poissonzahl ν_p bekannt, lässt sich der Elastizitätsmodul E durch einen einfachen Fit von (2.64) an die Kraft-Abstands-Kurve (siehe Abbildung 2.12) ermitteln. Die so während einer Aufnahme parallel zum Höhenbild aufgenommenen Elastizitätswerte können ebenfalls als Grauwertbild dargestellt werden und werden oft als Elastizitätskarte (*engl. elasticity map*) bezeichnet.

Adhäsion

Die Adhäsionskraft $F_{adh(dmt)}$ (siehe (2.38)) in jedem Messpunkt einer *PeakForce QNM*-Messung kann am Minimum der *retrace*-Kurve abgelesen werden. An diesem Punkt entspricht die vom Federbalken ausgeübte Zugkraft exakt der durch die Adhäsion verursachten Haltekraft zwischen Messspitze und Probe.

Die Ursache für diese Kraft sind meist Überlagerungen der in Abschnitt 2.2 beschriebenen attraktiven Wechselwirkungen: Van-der-Waals-Kräfte, elektrostatische Anziehung und die Entstehung eines Meniskus zwischen Messspitze und Probe durch einen dünnen Flüssigkeitsfilm auf der Probenoberfläche. Die Adhäsionskraft ist vom Radius der Messspitze abhängig und vergrößert sich mit zunehmendem Radius wegen der größer werden den Kontaktfläche.

Die Fläche unterhalb der Nulllinie (*engl. zero force line*) entspricht dabei der Adhäsionsarbeit (*engl. work of adhesion*). Die Adhäsionsarbeit trägt, bei Indentations-Experimenten ohne nennenswerte plastische Verformung maßgeblich zur Energiedissipation der Messspitzenoszillation in die Probe bei.⁶

Energie-Dissipation

Die Energiedissipation W_{diss} ist ein Maß dafür, wie viel Energie während einer Schwingungsperiode ($t = 0$ bis $t = T$) von der oszillierenden Messspitze irreversibel in die Probe dissipiert. Dieser Energiebetrag lässt sich durch Integration der in Abbildung 2.12 (b) gezeigten Kraft-Abstands-Kurve ermitteln. Genauer gesagt entspricht die dissipierte Energie der durch die Annäherungskurve und die Wegfahrkurve eingeschlossenen Fläche

$$W_{diss} = \int \vec{F} d\vec{Z} = \int_0^T \vec{F} d\vec{v}. \quad (2.65)$$

Würde die Kraftkurve für die Annäherung der Messspitze exakt gleich aussehen wie die Kraftkurve beim Entfernen von der Oberfläche in der zweiten Hälfte jeder Periode, so wäre $W_{diss} = 0$, da sich die Geschwindigkeit \vec{v} der Messspitzenbewegung wegen der sinusförmigen Bewegung ins Negative umkehrt, während der Kraftverlauf der *retrace*-Kurve dem der *trace*-Kurve gleicht.⁶ Gründe für einen Unterschied zwischen Annäherungskurve und Wegfahrkurve können zum einen Adhäsionseffekte zwischen Messspitze und Oberfläche sein, zum anderen kann es zu einer plastischen Oberflächenverformung kommen, die sich als Hysterese-Effekt zwischen den beiden Kurven bemerkbar macht und somit ebenfalls einen Anteil an der Energiedissipation hat. Weitere Effekte, deren Auftreten zu einem dissipativen Energieeintrag in die Probe führen können, sind die Neuorientierung von Atomen bzw. Molekülen, Reibungseffekte und das Ausbilden bzw. Abreißen eines Wassermeniskus zwischen Messspitze und Probenoberfläche.⁸⁰

Oberflächendeformation

Die vierte Oberflächeneigenschaft, die sich aus den mit *PeakForce QNM* aufgenommenen Kraft-Abstands-Kurven ermitteln lässt, ist die maximale Oberflächendeformation. Diese Eigenschaft beschreibt die Eindringtiefe der Messspitze in die Probenoberfläche bei Maximalkraft. Sie kann einfach aus der Differenz der z -Werte bei kraftfreier Berührung der Probe und bei erreichter Maximal-Kraft (engl.: *peak force*) berechnet werden. Die Oberflächendeformation enthält eine Superposition aus elastischen und plastischen Verformungseffekten. In einigen Fällen, wenn der Einfluss der elastischen Verformung vernachlässigt werden kann, kann aus der Oberflächendeformation bei bekannter Messspitzengeometrie die Materialhärte abgeschätzt werden.⁶

2.5. Oberflächenrauigkeit

Oberflächenrauigkeit auf der Nanometerskala spielt für viele Effekte, die auch auf makroskopischer Skala beobachtet werden können, eine wichtige Rolle. So hängen zum Beispiel makroskopische Oberflächeneigenschaften wie die Benetzbarkeit,⁸¹ Adhäsionskräfte⁸² und makroskopische Reibungskoeffizienten⁸³ von der mikroskopischen Topographie der Probenoberfläche und der dadurch gegebenen Rauigkeit ab.

Bei der quantitativen Bestimmung von Oberflächenrauigkeit spielt die Skala, auf der die Rauigkeit bestimmt wird, eine entscheidende Rolle. Dies ist der Fall, da die Oberflächendaten im Allgemeinen vor der Bestimmung der Rauigkeit durch eine Ebenen-Korrektur (engl. *flattening* bzw. *polynomial plane correction*) entzerrt und horizontal ausgerichtet werden. Diese Ebenen-Korrektur entfernt mögliche Schräglagen der Probenoberfläche

sowie Schwankungen in der Probendicke und messtechnisch bedingte, systematische Höhenabweichungen. Da es sich bei dieser Korrektur im Grunde um einen Hochpassfilter handelt, werden Oberflächenrauigkeiten mit niedriger Frequenz, das heißt große Unebenheiten der Oberfläche, in diesem Schritt entfernt.

Dabei wird bei den meisten Verfahren zur Bestimmung der Oberflächenrauigkeit ein statistischer Wert der Abweichung vom mittleren Höhenwert der Topographie bestimmt. Eine weit verbreitete Maßzahl ist in diesem Zusammenhang die mittlere quadratische Rauigkeit (*eng. root mean square (rms)-roughness*).

Die *rms*-Rauigkeit beschreibt dabei die Schwankung der Höhenwerte um das statistische Mittel $\bar{z} = \sum z_n$

$$r_{rms} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (z_n - \bar{z})^2}. \quad (2.66)$$

Dabei ist N die Anzahl der betrachteten Datenpunkte. Die *rms*-Rauigkeit ist also im Grunde die Standardabweichung der Höhenwerte von der mittleren Höhe der Probenoberfläche bezogen auf den betrachteten Bereich.

2.6. Auflösungsvermögen und Messartefakte

Im Unterschied zur Lichtmikroskopie, bei der Photonen nach ihrer Wechselwirkung mit der Probe gemessen werden, ist die Wechselwirkung zwischen AFM-Messspitzen und den zu vermessenden Oberflächen hinsichtlich ihrer Art und Stärke von Grund auf verschieden. Deswegen sind auch die Messartefakte und Abbildungsfehler, die in der Rasterkraftmikroskopie beobachtet werden können, von anderer Natur.

Auflösungsbegrenzung durch Krümmungsradius der Messspitze

Ein wesentlich limitierender Faktor für das maximal erreichbare Auflösungsvermögen, das mit Rasterkraftmikroskopen erreicht werden kann, ist die Geometrie der Messspitze. Das hier gemessene Topographiesignal spiegelt nicht nur die Probentopographie wieder, sondern repräsentiert immer eine geometrische Faltung (*engl. geometrical convolution*) der Topographie der Probenoberfläche mit der Form der Messspitze. Wie in Abbildung 2.13 anhand einer Skizze dargestellt wird, führt dies dazu, dass die maximale erreichbare Auflösung vom Krümmungsradius der Messspitze abhängt, und dass es nicht möglich ist, feine Strukturen mit charakteristischen Längen, die kleiner sind als der Radius der Messspitze, abzubilden.⁸⁴

Es ist ebenso möglich, dass sich die Spitzengeometrie während der Messung ungewollt verändert. Durch Abnutzungseffekte kann die Spitze, je nach Oberflächenbeschaffenheit und Wechselwirkung mit der Oberfläche, schnell an Schärfe verlieren, was zu einer Verschlechterung des Auflösungsvermögens führen kann. Außerdem kann es passieren, dass die Messspitze abbricht oder sich eine sogenannte Doppelspitze bildet. Im Messsignal wird dann wegen der oben beschriebenen Faltung das aufgenommene Bild durch eine verschobene Kopie überlagert. Dieser Effekt wird allgemein als Doppelspitzenartefakt bezeichnet. Doppelspitzenartefakte können dazu führen, dass ein Objekt mehrmals in einer Messung auftaucht.⁸⁵

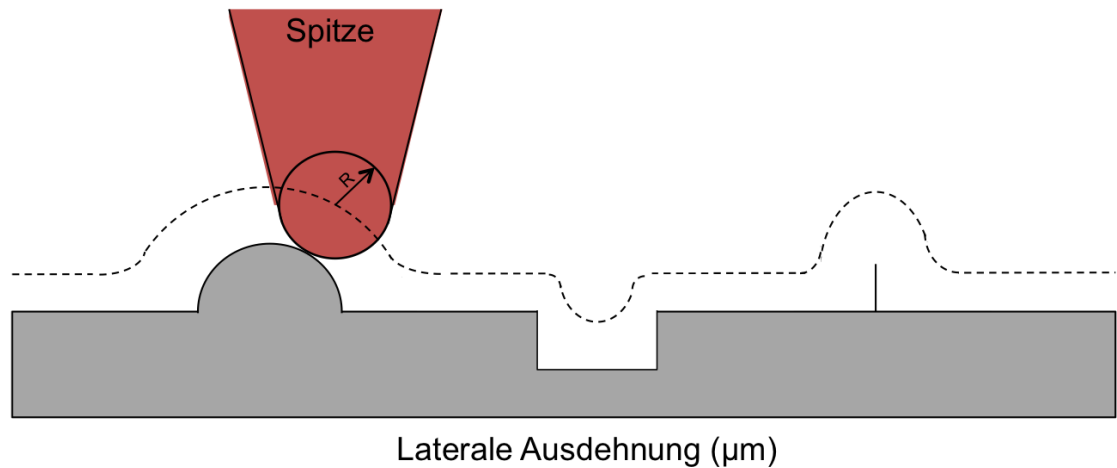


Abbildung 2.13: Das Auflösungsvermögen von Rasterkraftmikroskopen, die im Kontaktmodus, im Tapping-Modus oder im PeakForce QNM-Mode betrieben werden, wird durch den Krümmungsradius der Messspitze limitiert. Das gemessene Signal enthält immer eine geometrische Faltung der Messspitzengeometrie mit der Topographie der Probenoberfläche.

Langreichweitige Wechselwirkung

Bei Vermessungen von Oberflächen im kontaktfreien Modus ist nicht nur die Geometrie der Messspitze, sondern auch die Reichweite der zwischen der Probenoberfläche und der Messspitze wirkenden Kräfte ausschlaggebend für das erreichbare laterale Auflösungsvermögen. Der Grund dafür ist, dass an jeder Position über der Probe nicht nur der Bereich direkt unter der Messspitze mit dieser wechselwirkt, sondern auch die Umgebung dieses Bereiches. Die Größe dieser Umgebung hängt im Allgemeinen von der Stärke und der Reichweite der jeweiligen Wechselwirkungen ab.

Verunreinigung der Messspitze

In nicht berührungsfreien Messungen kann es immer auch zu einer adhäsiven Anlagerung von Verunreinigungen oder Probenmaterial an die Messspitze kommen. Dies führt durch die Veränderung der Messspitzengeometrie zu einer Veränderung in der Oberflächenabbildung. Zusätzlich können solche Verunreinigungen eine Veränderung der wechselwirkenden elektrostatischen und chemischen Kräfte verursachen. Artefakte dieser Art sind besonders bei biologischen Proben und bei Proben, die aus messtechnischen Gründen nicht gereinigt werden können, häufig.

Degradierung der Oberflächenstruktur durch die Messspitze

Sowohl im Kontaktmodus, im Tapping-Modus, als auch im PeakForce QNM-Modus können die Wechselwirkungen so stark sein, dass sich die Probe strukturell verändert.

Sind die Kräfte zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche zu groß, so kann es bei weichen Proben, zum Beispiel bei biologischen Materialien, zu plastischen Verformungen kommen. Bei Kräften, welche die Bindungskräfte innerhalb der Probe überschreiten, kann dies sogar zu einer Zerstörung von Strukturen in der Probenoberfläche führen. Besonders kritisch sind in diesem Zusammenhang die im Kontaktmodus auftretenden lateralen Scherkräfte. Diese entstehen, wenn die Messspitze im mechanischen Kontakt lateral über die Probenoberfläche bewegt wird. Im Tapping-Modus, wo laterale

Scherkräfte kaum eine Rolle spielen, sind die vertikalen Kräfte, die beim Aufsetzen der Messspitze wirken, deutlich geringer. Am feinsten lassen sich, wie im Abschnitt 2.4.3 beschrieben, die vertikal wirkenden Kräfte im *PeakForce QNM*-Modus kontrollieren. Aus diesem Grund ist dieses Messverfahren besonders geeignet für Proben mit geringer Steifigkeit, wie sie oft in der Biologie und der Polymerforschung vorkommen.⁶

Datenqualität

Je komplexer die Signalverarbeitungsschritte sind, die eingesetzt werden, um Probeneigenschaften und topographische Informationen zu ermitteln, desto wichtiger wird eine gute Qualität der Eingangsdaten. Diese Tatsache spielt zum Beispiel bei der Berechnung der verschiedenen Oberflächeneigenschaften (wie Adhäsionskraft, Elastizität, Energie-dissipation und Oberflächendeformation) bei *PeakForce QNM*-Messungen eine wichtige Rolle.

Vor einer Messung muss hier geklärt werden, ob das angenommene DMT-Modell für den elastischen Eindringvorgang der vorliegenden physikalischen Situation entspricht (vergleiche Abschnitt 2.3.1). Außerdem muss der Bereich der Kraft-Abstands-Kurve, an den die Modellfunktion gefittet wird, dem Bereich entsprechen, in dem eine elastische Probenverformung stattfindet. Ein falsches Modell und/oder ein ungeschickt gewählter Fit-Bereich können unter Umständen ebenfalls zu Fehlern im Fit und somit zu einer scheinbar validen Aussage führen. Diese entsprechen dann allerdings nicht der Realität.

3. Materialien

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl biologische als auch synthetische Materialien hinsichtlich ihrer Oberflächeneigenschaften vermessen und charakterisiert. Bei den biologischen Proben handelte es sich um zwei verschiedene Antikörper (Immunoglobulin G und Immunoglobulin M). Zu den synthetischen Materialien zählen, wie im folgenden Kapitel beschrieben, sowohl bioaktive Peptid-Polymere als auch Polypropylen und das im Anhang beschriebene Silizium bzw. Siliziumoxid.

3.1. Antikörper

Antikörper stellen den wohl effektivsten Abwehrmechanismus des Immunsystems von Säugetieren dar. Diese Makromoleküle, die allgemein Immunoglobulin (Ig) oder Glycoproteine genannt werden, werden durch das Immunsystem von sogenannten B-Lymphozyten produziert. Antikörper machen etwa 20 % des Proteingehalts im menschlichen Blutplasma aus.⁸⁶ Ig-Moleküle sind in der Lage, körperfremde Substanzen, wie z.B. Krankheitserreger, auch Antigene genannt, an sogenannten Antigen-Bindungsstellen (*engl. antigen-binding sites*) zu binden. Auf diese Weise können virale Erreger und mikrobiologische Toxine deaktiviert bzw. unschädlich gemacht werden. Außerdem können an Ig-Makromoleküle gebundene Antigene leichter von anderen Immunzellen, wie zum Beispiel weißen Blutkörpern, erkannt und vernichtet werden. Es gibt eine sehr große Anzahl von unterschiedlichen Antikörpern (etwa 10^{14}), die sich durch verschiedene Aminosäure-Sequenzen, Antigen-Bindungsstellen, durch ihr Gewicht, ihre Größe, Struktur und Funktion unterscheiden.⁸⁶

Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang das Immunoglobulin M (IgM) und das Immunoglobulin G (IgG). IgM-Makromoleküle dominieren bei der primären Immunantwort und sind deutlich größer als andere Ig-Moleküle. Das kleinere IgG dominiert bei der anschließenden sekundären Immunantwort.^{86, 87}

Aufbau der Immunoglobuline

Strukturell haben alle Immunoglobuline ein gemeinsames Grundmodell. Diese grundlegende Struktur hat eine Y-Form und besteht aus zwei leichten Ketten, den sogenannten L-Ketten (*engl. light L chains*), und zwei schweren Ketten, den sogenannten H-Ketten (*engl. heavy H chains*). Der Y-förmige Aufbau dieser Grundstruktur ist gut im Aufbau des Immunoglobulin G (IgG)-Moleküls in Abbildung 3.1 zu erkennen. Die enthaltenen L-Ketten bestehen aus etwa 220 Aminosäuren und haben ein molekulares Gewicht von etwa 25 kDa. Das molekulare Gewicht der H-Ketten variiert je nach Art des Immunoglobulins zwischen 50 und 70 kDa, wobei sie aus etwa 440 Aminosäuren aufgebaut sind.⁸⁶ Alle Ketten eines Antikörpers werden durch Disulfidbrücken zusammengehalten. L-Ketten kommen dabei in zwei Varianten (κ - und λ -Klasse) vor. Ein Ig-Makromolekül besteht dabei immer aus zwei L-Ketten der gleichen Klasse sowie zwei identischen H-Ketten. Bei den schweren H-Ketten kann man fünf verschiedene Arten bzw. Klassen (γ -, μ -, α -, ϵ -, δ -Klasse) unterscheiden. IgG besitzt zum Beispiel zwei schwere Ketten der γ -Klasse. Immunoglobulin M (IgM) enthält zwei H-Ketten der μ -Klasse. Die leichten Ketten besitzen, wie in Abbildung 3.1 gezeigt, jeweils eine variable (V_L) Domäne und eine konstante Domäne (C_L). Im Gegensatz dazu bestehen schwere Ketten aus einer variablen

(V_H) Domäne und drei (bei IgG) bzw. vier (bei IgM) konstanten Domänen (C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}, C_{H4}). Enzymatisch betrachtet findet man in der Ig-Grundstruktur zwei antigenbindende Fragmente (F_{ab}) und eine konstante Region (F_c).^{7, 86} Die Bindung von Erregern an den Antigen-Bindungsstellen erfolgt mit nicht kovalenter Bindung (Wasserstoffbrückenbildung, hydrophobe Wechselwirkung) nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip. Da im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich IgG und IgM untersucht wurden, werden diese im Folgenden genauer beschrieben.⁸⁸

Immunoglobulin G (IgG)

Ig-Makromoleküle mit einer schweren H-Kette der γ -Klasse (IgG) bilden mit 75 % bis 80 % eine große Mehrheit unter den Ig-Molekülen. Strukturell lässt sich diese Immunoglobulin-Klasse, wie in Abbildung 3.1 gezeigt, einfach durch das im vorherigen Abschnitt erklärte Grundmodell beschreiben. IgG bindet mit den zwei Antigen-Bindungsstellen an virale und mikrobiologische Erreger. Außerdem besitzt es am F_c-Rezeptor eine Bindungsstelle für Fresszellen (sogenannte Makrophagen) und Neutrophile, welche bei der Immunantwort für die Identifizierung und Zerstörung von schädlichen Mikroorganismen zuständig sind. Im Vergleich zu anderen Immunoglobulinen sind IgG-Moleküle mit 150 kDa ziemlich leicht. Sie sind außerdem die einzigen Antikörper, die von der Mutter über die Plazenta an das ungeborene Kind übergeben werden können, und selbst nach der Geburt werden IgG-Moleküle über die Muttermilch an das Kind übertragen.^{86, 88}

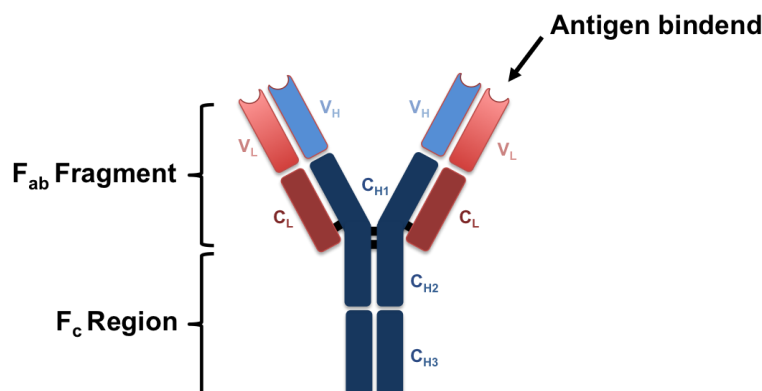


Abbildung 3.1: Strukturdiagramm des Y-förmigen Immunoglobulin G (IgG)-Antikörpers. Dieses auch als Gammaglobulin bezeichnete Makromolekül setzt sich aus zwei „leichten“ und zwei „schweren“ Proteinketten (rot und blau) zusammen, die von insgesamt vier Disulfidbrücken (schwarz) zusammengehalten werden.

Immunoglobulin M (IgM)

Das fünfeckige IgM ist das größte Immunoglobulin-Molekül. Strukturell besteht jedes IgM-Makromolekül aus fünf der oben beschriebenen Grundeinheiten. Außerdem enthält jedes dieser Pentamere eine weitere Polypeptid-Kette, die im Allgemeinen als J-Kette (*engl. joining chain*) bezeichnet wird. Die J-Kette ist kovalent an zwei der fünf (F_c) Endungen der Grundeinheiten gebunden. Die Masse der IgM-Moleküle beträgt etwa 970 kDa. Im menschlichen Körper gehören etwa 5 % bis 10 % der Ig-Moleküle zur IgM-Klasse. Diese Makromoleküle sind ein Hauptbestandteil der sogenannten primären Immunreaktion des Körpers gegen schädliche Erreger.^{86, 87}

Flexibilität von Immunoglobulinen

Die Flexibilität zwischen den einzelnen Domänen von Ig-Makromolekülen ist schon seit längerem im Fokus verschiedener wissenschaftlicher Studien, da die Beweglichkeit der Antigen-Bindungsstellen einen direkten Einfluss auf das Bindungsverhalten von Erregern und damit auf die Reaktion der einzelnen Antikörper hat.^{4, 7} Durch die hohe Flexibilität zwischen den einzelnen Subdomänen können Antikörper variabel auf eine Vielzahl von Antigenen mit verschiedenen Größen und Formen reagieren.⁴

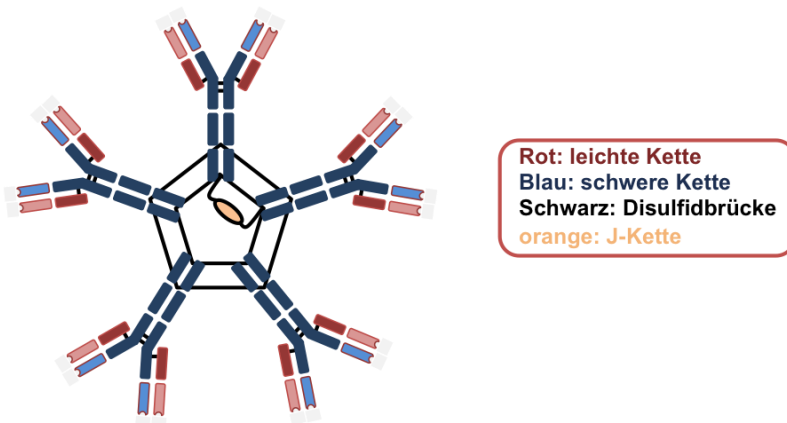


Abbildung 3.2: Strukturdiagramm der pentagonalen Struktur von Immunoglobulin M (IgM)-Antikörpern. Ähnlich wie IgG besteht auch dieses Makromolekül aus „leichten“ und „schweren“ Proteinketten (rot und blau), die mit Disulfidbrücken verbunden sind. Als zusätzliche Proteinkomponente besitzen IgM-Moleküle noch eine sogenannte J-Kette (gelb).

Für die Strukturuntersuchung von Antikörpern werden diese üblicherweise kristallisiert und dann mit Röntgenbeugungs-Messungen analysiert.⁸⁹ In anderen Studien zur Strukturanalyse von Antikörpern werden die Moleküle mittels Cryo-Elektronentomographie analysiert.⁹⁰ In beiden Fällen ist es schwierig, Rückschlüsse auf die interne Flexibilität der Makromoleküle zu ziehen, da Unterschiede in der Domänen-Struktur ebenso durch Kristallgittereffekte beeinflusst werden.⁵ Experimente mit Rasterkraftmikroskopen in Flüssigkeit haben den Vorteil, dass hier einzelne Moleküle strukturell charakterisiert werden können. Außerdem lassen sich über eine Analyse der Wechselwirkungskräfte Erkenntnisse über die Elastizität der verschiedenen Subdomänen des Makromoleküls gewinnen.

3.2. Polypropylen

Das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte synthetische Oberflächenmaterial Polypropylen (PP) gehört zusammen mit Polyethylen (PE) und Polybutylen (PB) zur chemischen Gruppe der Polyolefine. Polypropylen ist in dieser Gruppe das sowohl leichteste als auch härteste Material. Da sich die mechanischen Eigenschaften von PP während des Herstellungsprozesses auf einer breiten Skala variieren lassen, hat es eine Vielzahl von Anwendungsgebieten. Häufig wird PP als Verpackungsmittel, zur Herstellung von Folien, in der Spielwarenindustrie, im Bauwesen und in der Automobilindustrie eingesetzt. Mengemäßig ist Polypropylen nach Polyethylen der zweithäufigste Kunststoff. In der Herstellung von PP wird der Grundbestandteil Propen zusammen mit chemischen Katalysatoren unter Druck polymerisiert. Während dieses Vorgangs können sich die Molekülketten

unterschiedlich ausrichten und so im Endprodukt unterschiedliche Materialeigenschaften bewirken.⁹¹

Polypropylen ist ein Thermoplast (auch Plastomer genannt), das bedeutet, PP lässt sich in einem bestimmten Temperaturbereich reversibel verformen. Es ist in einem Temperaturbereich zwischen -40 °C und 110 °C ohne mechanische Beanspruchung formstabil und sein Flammpunkt liegt bei etwa 330 °C.⁹²

Im Festkörper kann PP sowohl in kristalliner als auch in amorpher Form auftreten. Dieses Verhalten lässt sich am besten anhand der Struktur der Molekülketten erklären, die sich während der Polymerisierung bilden. Diese Ketten bestehen allgemein aus der in Abbildung 3.3 gezeigten konstitutionellen Repetiereinheit (oder Wiederholeinheit). Diese Struktur ist der Grundbaustein, aus dem sich PP-Molekülketten zusammensetzen. Sie besteht aus der für Polyolefine typischen Grundstruktur und enthält eine zusätzliche Methylgruppe.

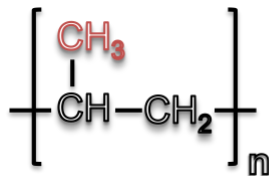


Abbildung 3.3 Strukturformel des Grundbausteins von Polypropylen-Molekülketten

Die Ausrichtung der konstitutionellen Repetiereinheiten in der Molekülkette entscheidet, ob das PP-Molekül im Festkörper in eine amorphe oder eine kristalline Phase übergeht. Ausschlaggebend ist hierbei die Ausrichtung der Methylgruppen relativ zum zentralen Kohlenstoffstrang des Makromoleküls.

Isotaktisches Polypropylen (iPP)

Beim isotaktischen Polypropylen (iPP) befinden sich die Methylgruppen immer auf der gleichen Seite relativ zum zentralen Kohlenstoffstrang. Diese PP-Art bildet starre, thermoplastische Festkörper. Die Molekülketten sind wegen ihrer stereoregulären Struktur (vergleiche Abbildung 3.4) in der Lage, sich zu Spiralen zu verformen und im Festkörper steife Kristalle zu bilden.⁹³

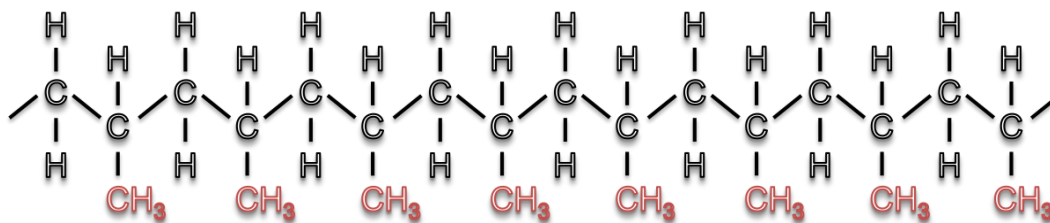


Abbildung 3.4: Strukturformel einer isotaktischen Polypropylen-Kette. Bei dieser Polypropylen-Art sind die Methylgruppen immer auf der gleichen Seite relativ zum zentralen Kohlenstoffstrang zu finden.

Dabei können iPP-Kristalle, abhängig von den Umgebungsbedingungen, zum Zeitpunkt der Kristallisation verschiedene Formen annehmen. Die drei prominentesten Formationen werden im Allgemeinen mit den griechischen Buchstaben α , β und γ bezeichnet und

wurden schon von Natta et al.⁹⁴ beschrieben. Die α -Formation lässt sich als monolithische Kristallformation beschreiben. Im Gegensatz dazu hat die β -Formation eine hexagonale Struktur und bildet sich aus energetischen Gründen nur, wenn die Kristallisation in einem bestimmten Temperaturbereich stattfindet. Die γ -Formation hat eine trikline Struktur und ist in Materialien aus industriellen Anwendungen nur selten zu finden.⁹⁵

Ataktisches Polypropylen (aPP)

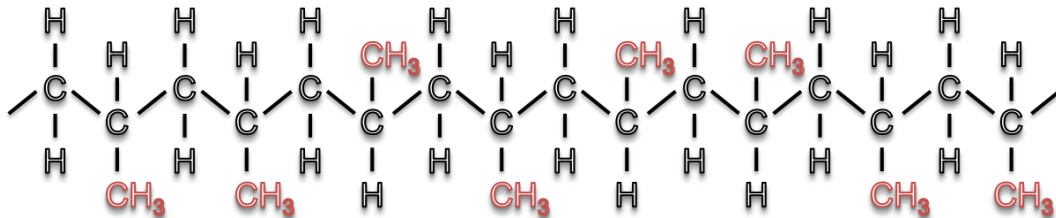


Abbildung 3.5: Strukturformel einer ataktischen Polypropylen-Kette. Bei dieser Polypropylen-Art sind die Methylgruppen unregelmäßig um den mittleren Kohlenstoffstrang des Makromoleküls angeordnet.

Beim ataktischen Polypropylen (aPP) sind die Methylgruppen, wie in Abbildung 3.5 gezeigt ist, zufällig relativ zum mittleren Kohlenstoffstrang des Makromoleküls ausgerichtet. Wegen der zufälligen und unregelmäßigen Struktur ist bei diesem Molekül keine Spiralbildung zu beobachten, und es bildet im Festkörper auch keine Kristalle. aPP bildet amorphe Festkörper, die sich durch eine elastische, gummiartige Struktur auszeichnen. Es hat thermoplastische Eigenschaften und wird industriell als Dicht- bzw. Dämmmasse oder als Vergussmasse in der Elektroindustrie verwendet.⁹¹

Syndiotaktisches Polypropylen (sPP)

Beim syndiotaktischen Polypropylen (sPP) sind die Methylgruppen in abwechselnder Folge auf beiden Seiten des mittleren Kohlenstoffstrangs angeordnet (siehe Abbildung 3.6). Mit ihrer regelmäßigen Struktur sind auch diese Molekülketten in der Lage, sich zu Spiralen zu verdrehen und im Festkörper Kristalle zu bilden. Als Festkörper hat sPP ähnliche Eigenschaften wie iPP, es hat allerdings eine etwas geringere Dichte.

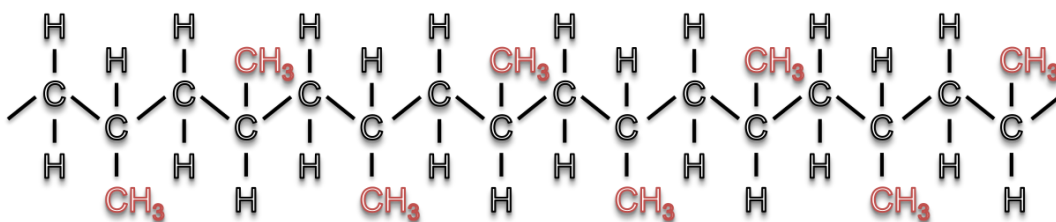


Abbildung 3.6 Strukturformel einer syndiotaktischen Polypropylen-Kette. Bei dieser Polypropylen-Art sind die Methylgruppen alternierend in entgegengesetzter Orientierung ausgerichtet.

Elastomeres Polypropylen

Bei dem sogenannten elastomeren Polypropylen (ePP) handelt es sich um eine Mischung aus ataktischem und isotaktischem Polypropylen. Seine thermoplastischen Eigenschaften verdankt dieser Stoff seinem mikrostrukturellen Aufbau aus amorphen ataktischen Mikrodomänen, die von vernetzten kristallinen iPP-Strukturen zusammengehalten wer-

den.⁹⁶ Die elastischen Eigenschaften von ePP hängen dabei vom Volumenanteil der kristallinen und amorphen Bereiche (der sog. Kristallinität) im Festkörper ab. Dabei führt ein großer Anteil von kristallinen Bereichen zu einer hohen Steifigkeit und Härte. Je nach Anwendung ist aber auch eine gewisse Elastizität und Flexibilität des Materials erwünscht. In diesem Fall ist es wichtig, dass die amorphen Bereiche keinen zu kleinen Anteil am Volumen haben. Die elastischen Eigenschaften des semikristallinen ePP lassen sich also gezielt durch das Mischverhältnis von aPP zu iPP kontrollieren.⁹⁷

Neben dem Mischverhältnis hängen die makroskopischen elastischen Eigenschaften von ePP auch noch von mikromechanischen Vorgängen in der semikristallinen Struktur des ePP-Festkörpers ab, die sich beim Kristallisieren ausbildet.⁸ Der genaue Zusammenhang zwischen mikromechanischen strukturellen Eigenschaften und makroskopischen Materialeigenschaften ist im wissenschaftlichen Fokus.⁹⁸⁻¹⁰⁰

Die mikrostrukturelle Anordnung im semikristallinen ePP entsteht während des Aushärtens und hängt von diversen äußeren Rahmenbedingungen während des Herstellungsprozesses ab.^{93, 101-103} Wie in Abbildung 3.7 zu erkennen ist, sind sowohl die isotaktischen Polymerketten (rot) als auch die ataktischen Polymerketten (blau) in Lösung in einem nicht-kristallinen Zustand (siehe Abbildung 3.7 (a)). Erst beim Erstarren bilden sich aus den isotaktischen Polymerketten kristalline Bereiche, die von den amorphen ataktischen Polymerketten umgeben sind (siehe Abbildung 3.7 (b)).

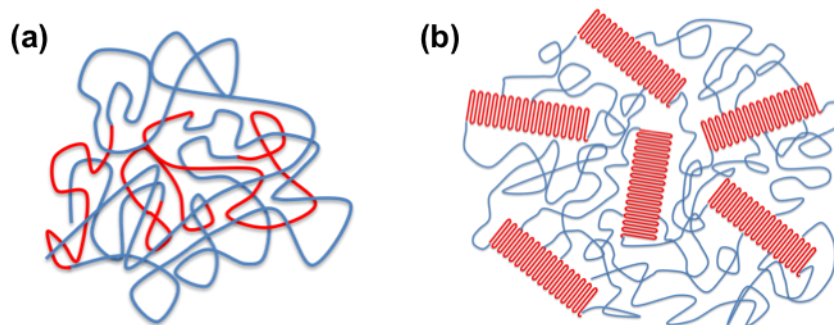


Abbildung 3.7 Elastomeres Polypropylen (rot: iPP-Makromolekül-Ketten, blau: aPP-Makromolekül-Ketten; (a) in der Lösung liegen sowohl iPP- als auch aPP-Ketten in nicht-kristalliner Form vor, (b) erst beim Aushärten des semikristallinen ePP-Festkörpers bilden sich isotaktische kristalline Bereiche, die von ataktischen amorphen Polymerketten umgeben sind. Die makroskopischen elastischen Eigenschaften werden sowohl von den elastischen Eigenschaften von iPP und aPP als auch von ihrer strukturellen Anordnung beeinflusst.⁸

3.3. Oberflächengebundene Polymere und Peptid-Polymere

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene PDMAA-Copolymere verwendet. Die Hauptkomponente (Matrixmonomer) DMAA (N,N-dimethylacrylamid) lag für alle Polymere bei >96%. Zusätzlich wurde zum einen eine photoreaktive Benzophenoneinheit, zum anderen eine Peptideinheit eingebracht. Die Zusammensetzung der zwei resultierenden Polymertypen war P(DMAA_{98.8%}-co-MaBP_{1.2%}) beziehungsweise P(DMAA_{98%}-co-GRGDSP_{2%}).

In seiner Polymerform ist PDMAA zellabweisend, das bedeutet, es unterdrückt das Anhaften von Proteinen aus der umgebenden Lösung, die für die Zelladhäsion verantwortlich sind, und erschwert somit das Zellwachstum auf der Oberfläche.¹³ Dieser Effekt ist

jedoch stark vom PDMAA-Anteil im Copolymer abhängig. Der PDMAA-Anteil kann über eine Veränderung beziehungsweise eine Anpassung der Parameter bei der Polymerisierung kontrolliert werden. Abbildung 3.8 zeigt die molekulare Repetiereinheit des PDMAAs.

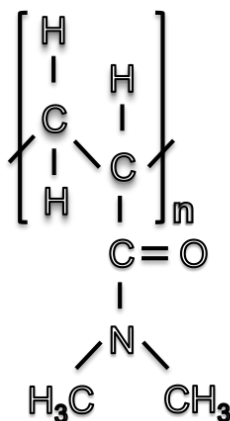


Abbildung 3.8 Strukturformel einer konstitutionellen Repetiereinheit einer Poly(N,N-dimethylacrylamid) (PDMAA)-Kette

Polymermonolagen

Zur Herstellung von strukturierten PDMAA-Copolymerfilmen auf Glas oder Silizium wurde ein lithographisches Verfahren verwendet, welches im Methodenteil dieser Arbeit näher beschrieben ist. Hierbei werden aufgebrachte Polymermoleküle photochemisch durch kovalente Bindungen an das Trägersubstrat angebunden. Dazu werden zunächst photoaktive Benzophenon-Moleküle auf der Oberfläche verankert, an die in einem zweiten Schritt die Polymerketten durch Bestrahlung mit ultravioletttem Licht ($\lambda = 350 \text{ nm}$) kovalent angebunden werden.¹⁰⁴

Auf diese Weise entsteht, wie in Abbildung 3.9 schematisch dargestellt, eine fest auf der Oberfläche verankerte PDMAA-Polymerschicht (Polymer-Monolage). Die blauen Ketten in Abbildung 3.9 sind dabei die PDMAA-Makromolekülstränge, und die roten Punkte repräsentieren die photoaktiven Benzophenon-Moleküle auf der Substratoberfläche.

Durch andere Modifizierungsverfahren ist es ebenfalls möglich, die Polymerketten gezielt mit ihren Enden an der Oberfläche zu verankern. Dieses Verankern der Kettenenden wird in der Herstellung entweder dadurch erreicht, dass man die Polymerketten aus den Verankerungsstellen herauswachsen lässt (*engl. grafting from*), oder dass man die funktionalen Endmoleküle an reaktive Oberflächenmoleküle bindet (*engl. grafting to*).¹⁰⁵ Ein solches Bürstenpolymer (*engl. polymer brushes*) ist in Abbildung 3.9 a) gezeigt. Eine ausführliche Beschreibung der Herstellungsprozesse und der physiochemischen Eigenschaften von Bürstenpolymeren ist in der Publikation von Barbey et al.¹⁰⁶ zu finden.

Peptid-Polymer-Hybridmoleküle

Um trotz des zellrepulsiven Verhaltens das Anhaften biologischer Zellen auf den PDMAA-beschichteten Oberflächen zu ermöglichen, können Hybridmoleküle aus PDMAA und dem Peptid *glycine-arginine-glycineaspartic-acid-serine-proline* (GRG-

DSP) synthetisiert werden. GRGDSP ist ein Peptid, das im extrazellulären Protein Fibronectin vorkommt. Dieses Protein ist an verschiedenen physiologischen Prozessen wie zum Beispiel der Gewebereparatur, Zellmigration und Zelladhäsion maßgeblich beteiligt. Da GRGDSP das Anhaften von biologischen Zellen unterstützt beziehungsweise fördert, können sich Zellen auf den PDMAA-GRGDSP-Hybridmolekülen ansiedeln.¹³ Wie von Loschonsky et al.¹² beschrieben, ist es mit Hilfe des oben erwähnten Verfahrens zur Oberflächenbeschichtung möglich, strukturierte bioaktive Oberflächen aus PDMAA-Bereichen und PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymerbereichen herzustellen.^{12, 13, 107}

Polymernetzwerke

Neben Polymer-Monolagen und Bürstenpolymeren können auch Polymernetzwerke aus PDMAA basierten Polymeren auf Oberflächen verankert werden. Diese Netzwerke werden über die gleichen photochemischen Prozesse an vorbehandelte Oberflächen angebunden.¹⁰⁸ Wie in Abbildung 3.9 gezeigt ist, sind die einzelnen Polymerketten in PDMAA-Netzwerken durch spezielle funktionelle Gruppen im Polymer aneinander gekoppelt, was es ermöglicht, Polymer-Oberflächenfilme mit größeren Schichtdicken herzustellen. Dazu wird ein statistisches Copolymer (auch Heteropolymer genannt) aus PDMAA und einer photoreaktiven Benzophenonmethacrylat (MaBP)-Gruppe synthetisiert.¹⁰⁸ Dieses Copolymer lässt sich wegen der enthaltenen MaBP-Einheit durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zu einem Netzwerk verbinden. Über den Anteil der MaBP-Gruppen im Polymer lässt sich der Grad der Vernetzung im Polymernetzwerk steuern. Aufgrund der hydrophilen Eigenschaften und der strukturellen Beschaffenheit schwellen $P(\text{DMAA}_{98,8\%}\text{-co-MaBP}_{1,2\%})$ Polymernetzwerke bei Kontakt mit wässriger Lösung stark an und bilden ein Hydrogel.¹⁰⁸

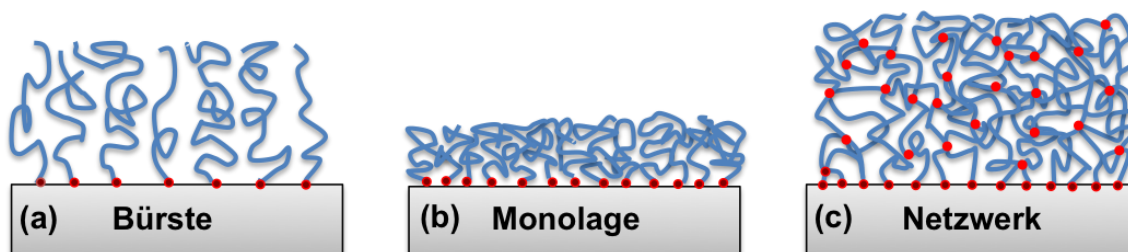


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung eines oberflächengebundenen Bürsten-Polymers (a), einer oberflächengebundenen Polymer-Monolage (b) und eines oberflächengebundenen Polymer-Netzwerks (c).

Die mit dem Anschwellen verbundene Veränderung der viskoelastischen Oberflächeneigenschaften von Polymernetzwerken kann in biophysikalischen Anwendungen ausgenutzt werden, um die Ansiedlung von Zellen und das Zellwachstum auf künstlichen biophysikalischen Oberflächen zu kontrollieren und zu erforschen. Wegen der zellabweisenden Natur von PDMAA liefert das $P(\text{DMAA}_{98,8\%}\text{-co-MaBP}_{1,2\%})$ dabei allerdings nur einen elastischen Untergrund, der in einem weiteren Schritt, zum Beispiel durch die Beschichtung mit PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymeren, behandelt werden muss, um das Ansiedeln von biologischen Zellen zu ermöglichen.¹⁰⁷

3.4. Verwendete Chemikalien und Messsonden

In diesem Abschnitt sind alle für die Probenvorbereitung und die Messung verwendeten Chemikalien, Materialien und Messsonden tabellarisch aufgelistet. Tabelle 3.1 enthält eine Auflistung aller verwendeten Materialien und Chemikalien, und in Tabelle 3.2 findet sich eine Auflistung der in dieser Arbeit verwendeten Messsonden.

Verwendete Chemikalien	Firmen	Artikel-Nummern
Aceton	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	5025.1
Ammoniumhydroxid (NH ₄ OH)	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	
Decalin	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	4438.1
Ethanol	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	5054.1
Flusssäure (HF) -1%	Bereitgestellt von Gruppe von Prof. Rehan	
Immunoglobulin G	Sigma Aldrich (St. Louis, USA)	A6029
Immunoglobulin M	Sigma Aldrich (St. Louis, USA)	I8260
Kaliumpermanganat-Pulver (KMnO ₄)	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	8004.1
Klebstoff (Epikote 1004)	Shell (Niederlande)	
Polystyrol-Partikel	Bangs Laboratories, Inc. (IN, USA)	PS06N/5878
Salzsäure (HCl)	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	K024.1
Schwefelsäure (H ₂ SO ₄)	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	K027.1
Silizium-Wafern	WaferNet Inc. (San Jose, USA)	
Siliziumoxid-Partikel	Bangs Laboratories, Inc. (IN, USA)	L001215B/4907
Toluol	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	7346.2
Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂)	Carl Roth GmbH (Karlsruhe)	8070.1
(4-(3-(Triethoxysilyl)propoxy) phenyl) (phenyl) methanon (Triethoxy-BP-Silan)	Bereitgestellt von der Gruppe Prof. Biesalski	

Tabelle 3.1: Zusammenfassung aller verwendeten Chemikalien sowie der Bezugsquellen und (wenn vorhanden) der jeweiligen Produktnummer.

Verwendete Messson- den	Firmen	Details
LRCH	Nanoscience Instruments Inc., Phoenix, USA	$k = 0.7 \text{ N/m}$, $f = 45 \text{ kHz}$
NCHR	NanoAndMore GmbH (Wetzlar, Deutschland)	$k = 42 \text{ N/m}$, $f = 320 \text{ kHz}$
NSC14/AIBS	MikroMasch, NanoAndMore GmbH (Wetzlar, Deutschland)	$k = 5 \text{ N/m}$, $f = 150 \text{ kHz}$
ScanAsyst-Fluid	Bruker AFM probes (Santa Barbara, USA)	$k = 0.7 \text{ N/m}$, $f = 150 \text{ kHz}$
SNL	Bruker AFM probes (Santa Barbara, USA)	$k = 0.4 \text{ N/m}$, $f = 65 \text{ kHz}$
TL-CONT	NanoAndMore GmbH (Wetzlar, Deutschland)	$k = 0.2 \text{ N/m}$, $f = 13 \text{ kHz}$
ZEIHR	NanoAndMore GmbH (Wetzlar, Deutschland)	$k = 27 \text{ N/m}$, $f = 130 \text{ kHz}$

Tabelle 3.2: Zusammenfassung der in dieser Arbeit verwendeten Messsonden mit den jeweiligen Herstellern, Federkonstanten und Resonanzfrequenzen.

4. Methoden

4.1. Probenpräparation

Dieses Unterkapitel beschreibt die Methoden und angewandten Verfahren, die benutzt wurden, um die in dieser Arbeit untersuchten Oberflächen herzustellen, für die Messung vorzubereiten, beziehungsweise zu beschichten.

Herstellung von Antikörper-Proben

Menschliches IgM-Serum (siehe Tabelle 3.1) und IgG-Serum (siehe Tabelle 3.1) wurden bei Sigma Aldrich (St. Louis, USA), einem Produzenten und Vertreiber von Forschungsschemikalien, bezogen. Die in der Lieferung enthaltenen Stammlösungen hatten eine Konzentration von 0.2-1.0 mg/ μ l.

Um eine homogene, nicht zu dichte Verteilung der Antikörper auf den für diese Experimente verwendeten Muskovite-Mica-Oberflächen zu erhalten, wurden die IgM-Antikörper-Stammlösungen im Verhältnis 1:60 mit ultrareinem deionisierten Wasser (Milli-Q-Wasser) verdünnt. Ein 100 μ l Tropfen der verdünnten Lösung wurde danach auf das Muskovite-Mica-Substrat aufgetragen und für 60 s auf der Oberfläche belassen. Im nächsten Schritt wurden alle nicht an der Oberfläche haftenden Antikörper durch vorsichtiges Abspülen mit Milli-Q-Wasser entfernt. Ein verbleibender Tropfen des gefilterten Wassers (pH-Wert = 5.4) wurde für die anschließenden rasterkraftmikroskopischen Untersuchungen als Messmedium benutzt.

Die bei einem umgebenden Medium mit pH = 5.4 auftretenden Oberflächenladungen sind in Abbildung 4.1 gezeigt. Während die Substratoberfläche (Mica) für alle pH-Werte negativ geladen ist, liegt der verwendete pH-Wert in der Nähe des isoelektrischen Punktes von IgM bei $\text{pH} = 5.4 \pm 1.0$.¹¹¹ Die Antikörper haften in diesem Fall aus zwei Gründen an der Oberfläche. Zum einen werden sie durch Van-der-Waals-Kräfte an die Oberfläche adsorbiert, und zum anderen teilen sie sich Gegenionen der geladenen Mica-Oberfläche. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die Moleküle trotz dieser Bindung an die Oberfläche ihre Elastizität behalten.^{112, 113}

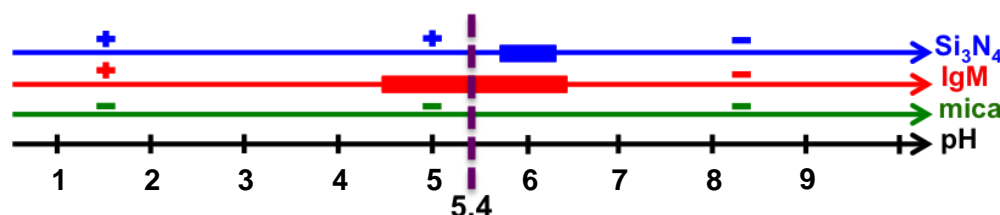


Abbildung 4.1: Darstellung der Oberflächenladung von Si_3N_4 , IgM und Mica für verschiedene pH-Werte. [39],[47]. (Springer and the original publisher (Tsinghua University Press / Nano Research, 2015, *Quantitative measurement of the mechanical properties of human antibodies with sub-10-nm resolution in a liquid environment*, Agnieszka Voss, Christian Dietz, Annika Stocker, Robert Stark, five figures, Nano Res.; DOI 10.1007/s12274-015-0710-5 - (C) Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015) is given to the publication in which the material was originally published, by adding; with kind permission from Springer Science and Business Media.)

Die in dieser Arbeit vermessenen IgG-Proben wurden auf die gleiche oben beschriebene Weise wie die IgM-Proben präpariert.

ge Plättchen geschnitten. In einem ersten Reinigungsschritt wurden die zugeschnittenen rechteckigen Si-Plättchen mit Aceton und Ethanol gereinigt. In einem weiteren Reinigungsschritt und zur Oberflächenaktivierung wurden die Proben nachfolgend in einer Wasser-Plasma-Kammer für 60 s behandelt. Die so aktivierten Si-Oberflächen wiesen nach der Plasmabehandlung eine deutlich höhere Hydrophilie als vor der Behandlung auf. Zur Verankerung des Polymernetzwerks wurde im nächsten Vorbereitungsschritt eine Schicht (4-(3-(Triethoxysilyl) propoxy) phenyl) (phenyl) methanon (Triethoxy-BP-Silan) als Lösung in Toluol durch ein Rotationsbeschichtungsverfahren (*engl. spin-coating*) auf die Si-Oberfläche aufgebracht. Dabei wurde die Probe für 5 s mit 300 U/min und anschließend 30 s mit 3000 U/min rotiert. Im nächsten Schritt der Vorbehandlung wurden die so beschichteten Proben über Nacht bei 120 °C gelagert. Dies führte zu einer Kondensationsreaktion auf der Si-Oberfläche, die eine kovalente Anbindung der Silangruppen an das Trägersubstrat bewirkte.^{14, 104} Im letzten Schritt wurde nicht an die Oberfläche gebundenes Material in einer vierstündigen Extraktion mit Toluol in einer Soxhlet-Apparatur entfernt.

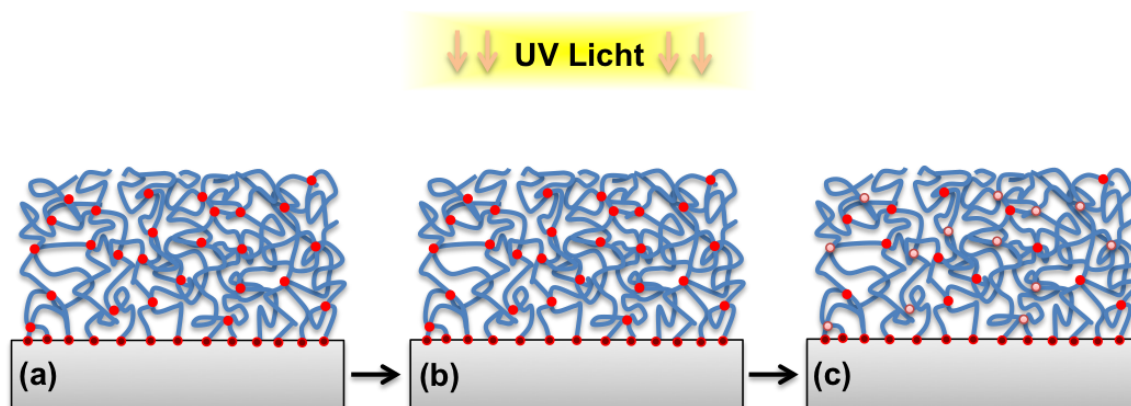


Abbildung 4.3: Überblick über das hier genutzte lithographische Beschichtungsverfahren. Dabei wird in Schritt (a) die $P(\text{DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ -Polymerlösung auf die mit photoaktiven Benzophenon-Molekülen (BP Silan) vorbehandelte Siliziumoberfläche aufgebracht. Anschließend werden in Schritt (b) die $P(\text{DMAA-co-MaBP}_{1.2\%})$ Moleküle durch Bestrahlung mit UV-Licht untereinander und mit der Si-Oberfläche vernetzt. Wie in (c) zu sehen ist, haben auch nach der Verankerung nicht alle Benzophenon-Verbindungen reagiert.

Das verwendete $P(\text{DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ Copolymer wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Markus Biesalski nach dem von Toomey et al.¹⁰⁸ beschriebenen Verfahren hergestellt. Für die folgende systematische Untersuchung der Oberflächeneigenschaften wurden verschiedene Copolymer-Konzentrationen (5 mg/ml, 10 mg/ml und 20 mg/ml) und verschiedene Rotationsgeschwindigkeiten (60 s @ 1000 rpm, 3000 rpm und 5000 rpm) beim Rotationsbeschichtungsverfahren verwendet. Nach dem Auftragen der Netzwerkpolymerlösung wurden die Polymerketten durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$) photochemisch mit dem Si-Substrat verbunden. Die photochemische Reaktion, die dabei zwischen den Polymerketten und den oberflächengebundenen Benzophenon-Molekülen ausgelöst wurde, ist in Abbildung 4.2 dargestellt. Ein schematischer Überblick über das hier genutzte lithographische Beschichtungsverfahren ist in Abbildung 4.3 gezeigt. Überschüssige und ungebundene Polymermolekülketten wurden danach durch eine etwa vierstündige Extraktion mit Aceton in einem Soxhlet-Apparat

entfernt. Danach wurden die auf diese Weise erzeugten Proben im Vakuumofen bei 40 °C getrocknet.

Für die Herstellung von bioaktiven Hydrogelen wurden ebenfalls Si-Wafer mit P(DMAA_{98,8%}-co-MaBP_{1,2%}) Polymernetzwerken beschichtet. Diese Hydrogele wurden nachfolgend in einem weiteren lithographischen Arbeitsschritt mit einer Schicht aus bioaktiven PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymeren überzogen. Eine schematische Darstellung der in der Probenpräparation durchgeführten Schritte ist in Abbildung 4.4 gezeigt. Für die Herstellung der in diesem Zusammenhang verwendeten Polymernetzwerke wurde das oben beschriebene Verfahren wie folgt abgewandelt.

Zu Beginn wurden 1 cm² große rechteckige Si-Plättchen, wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, zugeschnitten, gereinigt und mit Plasma behandelt. Die Benzophenongruppen zum Verankern der Beschichtung auf dem Si-Substrat wurden als Lösung (Triethoxy-BP-Silan in Toluol) erst bei 300 U/min für 3 s und dann bei 2000 U/min für 25 s durch Rotationsbeschichtung auf die Oberfläche aufgebracht und danach durch Aufheizen auf 120 °C für 14 Stunden kovalent an die Oberfläche angebunden. Die P(DMAA_{98,8%}-co-MaBP_{1,2%}) Netzwerk-Lösung wurde im Folgenden durch Rotationsbeschichtung mit 300 U/min für 3 s und darauf mit 2000 U/min für 25 s aufgetragen (siehe Abbildung 4.4 (a)). Nach dem Auftragen der Netzwerkpolymerlösung wurden die Polymerketten durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht mit einer Wellenlänge $\lambda = 365$ nm und einer Strahlungsdichte von 4 J/cm² untereinander und mit den photoaktiven Benzophenon-Molekülen mit dem Si-Substrat verbunden. Bei dieser Strahlungsdichte kann man davon ausgehen, dass sich ein mit der Si-Oberfläche verbundenes Polymernetzwerk aus P(DMAA_{98,8%}-co-MaBP_{1,2%}) Ketten gebildet hat, in dem noch etwa 50 % der Benzophenon-Moleküle nicht reagiert haben (siehe Abbildung 4.4 (b)).¹⁰⁴

	Verfahren 1	Verfahren 2	Verfahren 3
Schritt 1	5 s bei 300 U/min	5 s bei 500 U/min	Aufbringen der Lösung
Schritt 2	Aufbringen der Lösung	Aufbringen der Lösung	5 s bei 300 U/min
Schritt 3	25 s bei 2000 U/min	25 s bei 2000 U/min	25 s bei 2000 U/min

Tabelle 4.1: Übersicht über die drei verschiedenen Rotationsbeschichtungs-Abläufe zur Herstellung von bioaktiven PDMAA-GRGDSP-Beschichtungen

Beim Aufbringen der zweiten bioaktiven Peptid-Polymerschicht wurden die drei in Tabelle 4.1 zusammengefassten Verfahren benutzt, um eine mögliche Abhängigkeit der bioaktiven Hybridpolymerschicht von verschiedenen Beschichtungsparametern zu ermitteln. Jedes der Verfahren lässt sich in zwei Beschichtungs-Schritte und einen Schritt, in dem die PDMAA-GRGDSP-Lösung aufgebracht wird, unterteilen. Beim Verfahren 1 wurde die Probe zum Beispiel erst für 5 s bei 300 U/min rotiert, dann wurde die Lösung mit den PDMAA-GRGDSP-Hybridmolekül-Ketten aufgetragen und im 3. Schritt wurde

die Probe noch einmal für 25 s bei 2000 U/min rotiert, um eine gleichmäßige Oberflächenbenetzung zu erreichen (siehe Abbildung 4.4 (c)).

Alle auf diese Weise hergestellten Proben wurden danach mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254 \text{ nm}$ und einer Energiedichte von 16 J/cm^2 durch eine lithographische Maske hindurch bestrahlt, um ausgewählte Bereiche der bioaktiven PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymerschicht mit dem $\text{P(DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ zu vernetzen und an die untere Polymerschicht anzubinden (siehe Abbildung 4.4 (d)). Nichtbelichtete und damit nicht angebundene Polymerketten wurden anschließend durch eine mehrstündige Extraktion mit Aceton in einem Soxhlet-Extraktor entfernt. (siehe Abbildung 4.4 (d)).

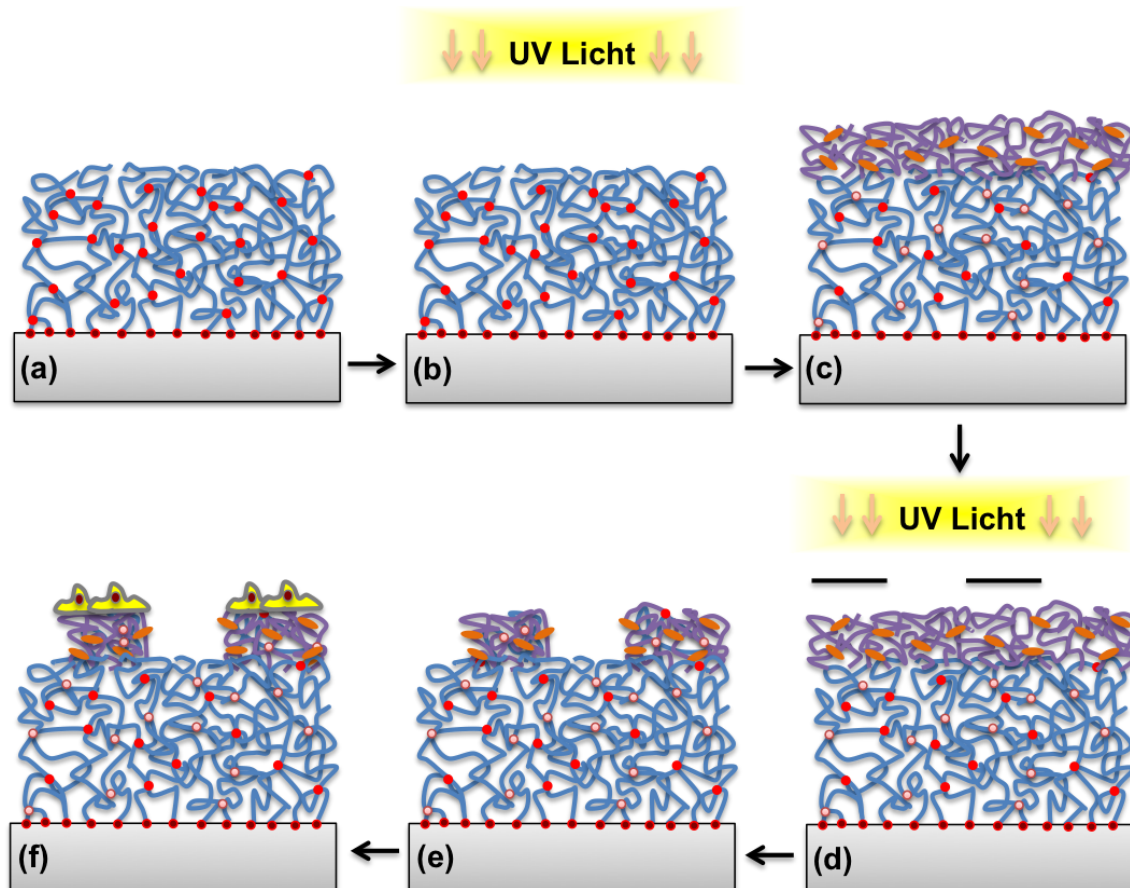


Abbildung 4.4: Schematische Darstellung des lithographischen Verfahrens zur Beschichtung von $\text{P(DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ Polymer-Netzwerken mit einer strukturierten, bioaktiven PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymerschicht. Dabei wird (a) die $\text{P(DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ Lösung auf die mit Triethoxy-BP-Silan vorbehandelte Oberfläche aufgebracht und (b) mit UV-Licht an die Oberfläche angebunden. Danach (c) wird die PDMAA-GRGDSP-Lösung aufgetragen und (d) mit UV-Licht und einer lithographischen Maske photochemisch mit dem Netzwerk verbunden. Nach dem Auswaschen (e) erhält man eine bioaktive Oberfläche mit strukturierten Bereichen, auf denen Zellen angesiedelt werden können (f).¹¹⁴

Um die bioaktive PDMAA-GRGDSP-Schicht genauer charakterisieren zu können, wurde diese auch ohne ein zwischengeschaltetes Polymernetzwerk aus $\text{P(DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ Copolymeren auf Siliziumoberflächen aufgebracht. Eine schematische Darstellung der dazu durchgeführten Schritte ist in Abbildung 4.5 gezeigt. Dabei wurden, wie bereits im vorherigen Abschnitt beschrieben, 1 cm^2 große Siliziumplättchen zugeschnitten, gereinigt und im Plasmagerät vorbehandelt. Für die Anbindung der PDMAA-

GRGDSP Hybridpolymerketten wurden die Oberflächen auch in diesem Fall mit Triethoxy-BP-Silan behandelt. Nach dem Auftragen der Hybridpolymerlösung mittels Rotationsbeschichtung wurden die Beschichtungen durch den in Abbildung 4.2 gezeigten photochemischen Prozess mit dem Substrat verbunden. Wie in Abbildung 4.5 gezeigt, wurde eine lithographische Maske verwendet, um eine strukturierte Oberfläche zu erzeugen (siehe Abbildung 4.5 (b)). Nach dem Entfernen der nicht angebondenen Polymere sind dann nur die belichteten Bereiche mit dem bioaktiven Material beschichtet (siehe Abbildung 4.5 (c)).

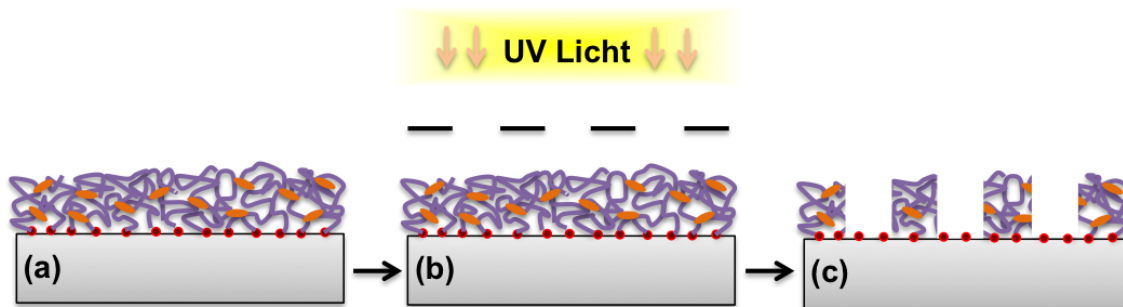


Abbildung 4.5: Schematische Darstellung der Beschichtung von Siliziumoberflächen mit einer strukturierten Monolage aus bioaktiven PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymerketten. Die Polymerlösung wird dafür durch Rotationsbeschichtung auf die vorbehandelte Oberfläche aufgebracht (a), danach werden die Polymerketten über einen photochemischen Prozess durch eine lithographische Maske mit der Probenoberfläche kovalent verbunden (b). Nach dem Auswaschen sind nur die belichteten Bereiche bioaktiv beschichtet (c).

4.2. Ätzverfahren

Im Rahmen dieser Arbeit wurden chemische Ätzverfahren benutzt, um ePP-Proben schichtweise abzutragen.

Ätzung von Polypropylen-Oberflächen

Um die nanomechanischen und strukturellen Eigenschaften von semikristallinen ePP-Proben in verschiedenen Tiefen bestimmen zu können, wurde in dieser Arbeit ein Verfahren benutzt, das diese Materialeigenschaften Schicht für Schicht durch Abtragen der Oberfläche vermisst.

Für die Entfernung von dünnen ePP-Schichten zur nanomechanischen und strukturellen Untersuchung der semikristallinen Polypropylen-Proben wurde ein chemisches Nassätzverfahren angewandt. In diesem von Rehse¹¹⁵ beschriebenen Verfahren wird eine Mischung aus Kaliumpermanganat (KMnO_4)-Pulver und Schwefelsäure (H_2SO_4) benutzt, um die oberste Oberflächenschicht aufzulösen. Zur Herstellung der in dieser Arbeit verwendeten Ätzlösung wurden deswegen 1g KMnO_4 und 20 ml H_2SO_4 (30 wt %) mit einem Magnetrührer für 10 min bei 300 U/min vermischt.

In jedem Ätzschritt wurden die beschichteten Oberflächen für 1 min in die oben beschriebene Ätzlösung getaucht. Danach wurden die Proben, in nachfolgender Reihenfolge, mit 10 wt % Schwefelsäure, Wasserstoffperoxid, destilliertem Wasser und Aceton abgespült. Nach jedem Ätzschritt wurden die Proben mit Stickstoff abgeblasen.

Auf diese Weise wurden pro Ätzschritt die obersten 11 nm der ePP-Beschichtung abgetragen. Diese Ätzrate wurde aus der Veränderung der Filmdicke abgeleitet und stimmt mit der von Rehse et al.¹¹⁵ für dieses Verfahren ermittelten Ätzrate überein.

4.3. Rasterkraftmikroskopische Untersuchungen

Im folgenden Abschnitt werden die zur Charakterisierung der topographischen und nanomechanischen Eigenschaften eingesetzten Messungen im Detail beschrieben. Da für die verschiedenen Oberflächen unterschiedliche Messtechniken angewandt wurden, ist der folgende Abschnitt entsprechend gegliedert.

Experimente mit humanen Antikörpern

Für die topographische und nanomechanische Charakterisierung der humanen IgM- und IgG-Makromoleküle wurde ein Rasterkraftmikroskop vom Typ Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) verwendet. Dieses wurde für alle Messungen an den Antikörperproben im *PeakForce QNM*-Modus betrieben. Die Messungen wurden in Flüssigkeit durchgeführt, um die Antikörper in einer möglichst realitätsnahen Umgebung charakterisieren zu können. Dabei wurden simultan neben der Topographie auch die räumlichen Verteilungen der Adhäsion, des Elastizitätsmoduls und der dissipierten Energie aufgenommen. Es wurden zwei speziell für Flüssigkeitsmessungen geeignete Federbalken vom Typ ScanAsyst-Fluid und SNL (siehe Tabelle 3.2) benutzt. Die nominellen Federkonstanten der Federbalken waren $k = 1.0$ N/m bzw. $k = 0.4$ N/m. Um in der Auswertung der *PeakForce QNM*-Messung quantitative Aussagen zu mechanischen Probeneigenschaften machen zu können, wurden die Federkonstanten der verwendeten Federbalken vor jeder Messung mit der sog. *thermal noise spectrum*-Methode, wie von Butt et al.¹¹⁶ beschrieben, kalibriert. Die Radien der Messspitzen wurden über die sog. *blind tip reconstruction*¹¹⁷ mit einer Probe aus Titanoxid (RM15, Bruker AFM probes, Deutschland) bestimmt. Die so ermittelten Radien betrugen durchschnittlich etwa 7 nm für die Messspitzen der ScanAsyst-Fluid-Federbalken und durchschnittlich etwa 9 nm für die SNL-Messspitzen.

Bei den Aufnahmen wurde eine Aufnahmezeit von 2 kHz eingestellt, so dass pro Sekunde Kraft-Abstands-Kurven von 2000 Indentationsvorgängen gemessen und abgespeichert wurden. Die *peak force* wurde in den Experimenten zwischen 300 pN und 800 pN variiert. Messungen mit Kräften kleiner als 300 pN waren auf Grund von hydrodynamischen Dämpfungseffekten der umgebenden Flüssigkeit nicht möglich. Messungen mit Kräften über 800 pN führten zu strukturellen Veränderungen der Makromoleküle sowie zu Anlagerungen von biologischem Material an der Messspitze.

Die aufgenommenen *PeakForce QNM*-Daten wurden in der Aufnahmesoftware auf der Basis des in Abschnitt 2.4.3 beschriebenen Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modells⁵⁰ vorverarbeitet und dann, wie in Abschnitt 4.4 beschrieben, ausgewertet.

Mechanische Charakterisierung von Polypropylen

Für die strukturelle und nanomechanische Untersuchung der semikristallinen Polypropylen-Proben wurden Messungen mit einem Rasterkraftmikroskop vom Typ Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) durchgeführt. Um sowohl topographische In-

formationen als auch Informationen über die elastischen Probeneigenschaften sowie die semikristalline Struktur der Probe zu erhalten, wurde der *PeakForce QNM*-Modus verwendet. Auf der Basis der Topographiedaten wurde außerdem die *rms*-Rauigkeit bestimmt.

Die strukturellen und nanomechanischen Volumeneigenschaften der Polypropylen-Proben wurden mit einem iterativen Verfahren vermessen, bei dem die Probenoberfläche abwechselnd vermessen und durch das in Abschnitt 4.2 beschriebene Nassätzverfahren abgetragen wurde.

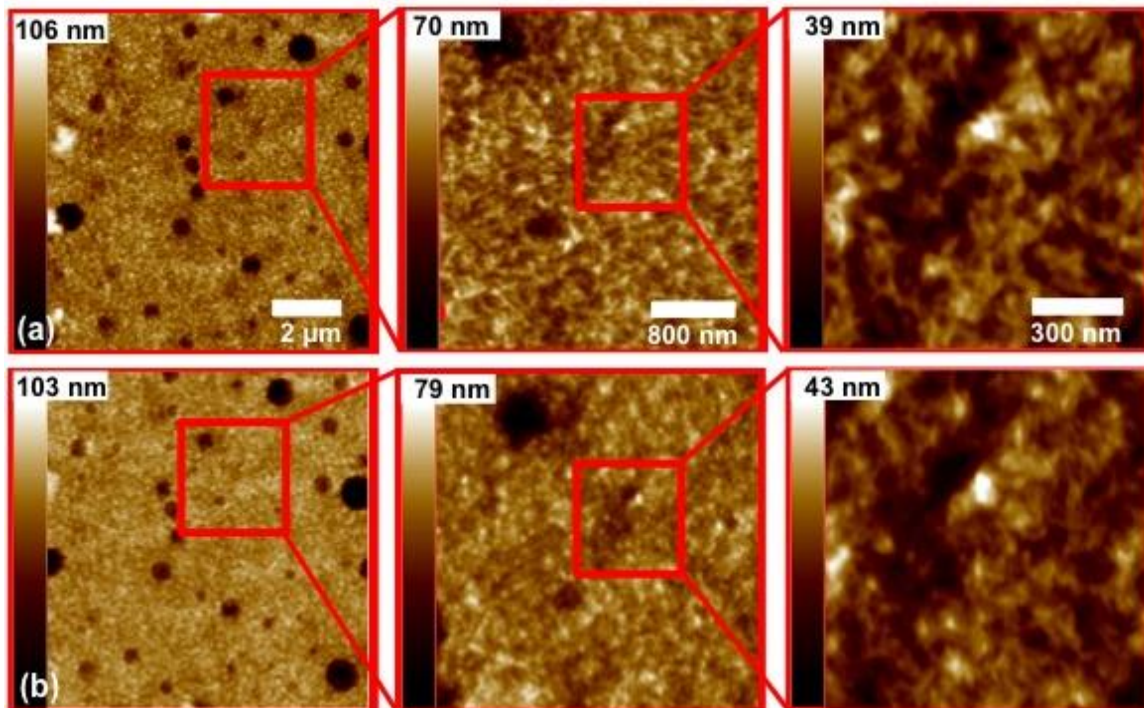


Abbildung 4.6: Darstellung des Verfahrens zur Ausrichtung der Probe auf den Messbereich der vorhergehenden Messung für zwei aufeinanderfolgende Ätzschrte (a) und (b). Dabei wird nach jedem Ätzschrte zunächst in einem Übersichtsbild ein $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ großer Bereich der Probe aufgenommen (linke Spalte). Nach einem erneuten Ausrichten der Probe wird dann ein weiteres Übersichtsbild von einem $3.3 \times 3.3 \mu\text{m}^2$ großen Bereich aufgenommen (mittlere Spalte). Im letzten Schritt wird die Probe noch einmal ausgerichtet und die eigentlich Messung gestartet (rechte Spalte). (Reprinted (adapted) with permission from "Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene", Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Für die *PeakForce QNM*-Messungen wurde ein Federbalken vom Typ NSC14/AIBS (siehe Tabelle 3.2) mit einer nominellen Federkonstante von $k = 5 \text{ N/m}$ verwendet. Der nominelle Radius der Messspitze betrug für alle Experimente 8 nm. Um quantitative Aussagen über die elastischen Probeneigenschaften machen zu können, wurde die tatsächliche Federkonstante vor jeder Messung unter Verwendung der von Sader et al.⁶⁶ vorgestellten Methode kalibriert. Außerdem wurde der tatsächliche Messspitzen-Radius über eine sogenannte *blind tip reconstruction*¹¹⁷ mit einer Probe aus Titanoxid (RM15, Bruker AFM probes) vermessen. In den Messungen wurden Bilder mit einer Auflösung von 512×512 Pixeln (Bildpunkten) und einer Amplitude von 150 nm aufgenommen. Die Scan-Geschwindigkeit lag bei $1 \mu\text{m/s}$, und es wurden Kraft-Abstands-Kurven mit einer Rate von 2 kHz aufgenommen. Zum Vergleich und zur Verifikation der auf diese Weise

gemessenen Daten wurden zusätzlich, mit einer deutlich geringeren Rate von 1 Hz, statische Kraft-Abstands-Kurven mit einer Amplitude von 450 nm aufgenommen.

Um den dreidimensionalen Verlauf der Struktur und der Probeneigenschaften in verschiedenen Tiefen unter der Oberfläche zu ermitteln, war es zwingend erforderlich, in den aufeinanderfolgenden Messungen nach jedem Ätzschritt immer den exakt gleichen Bereich der Probe zu vermessen. Um dies zu gewährleisten, wurden die Proben nach jedem Ätzvorgang erst grob mit Hilfe des internen optischen Mikroskops des Rasterkraftmikroskops vorausgerichtet. Für eine genaue Positionierung der Probe wurde danach eine Reihe von Topographie-Aufnahmen mit immer größer werdender lateraler Vergrößerung aufgenommen. Zwischen den einzelnen Aufnahmen wurde der Oberflächenbereich aus der vorherigen Messung auf der Probe anhand von strukturellen Oberflächeneigenschaften identifiziert und die Probe auf diesen Oberflächenbereich ausgerichtet. Wie in Abbildung 4.6 an zwei Beispielen (a) und (b) gezeigt ist, wurde für jede geätzte Schicht eine Übersichtsaufnahme mit einer Größe von $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ aufgenommen (siehe Abbildung 4.6 linke Spalte). Nachdem auf dem ersten Bild der ursprüngliche Messbereich aus der vorherigen Messung identifiziert wurde (roter Kasten in den Bildern der linken Spalte), wurde dieser in einer weiteren Aufnahme mit $3.3 \times 3.3 \mu\text{m}^2$ aufgenommen (siehe Abbildung 4.6 mittlere Spalte). Nach einer weiteren Ausrichtung auf den gewünschten Messbereich wurde dann die eigentliche Messung mit einer Bildgröße von $1.1 \times 1.1 \mu\text{m}^2$ und einem Messraster von 512×512 Pixeln aufgenommen. Dieses iterative Hereinzoomen nach jedem Ätzschritt stellte sicher, dass immer der gleiche Probenbereich für verschiedene Tiefen vermessen wird.

Um den Einfluss der in der *PeakForce QNM*-Messungen verwendeten Maximalkraft auf die Probe zu untersuchen und störende Effekte durch plastische Probenverformung auszuschließen, wurden auf einem separaten Bereich der Probe eine Reihe von Belastungsmessungen aufgenommen. Dabei handelte es sich um *PeakForce QNM*-Messungen, welche mit ansteigender Maximalkraft auf dem gleichen Oberflächenbereich aufgenommen wurden. Die Maximalkraft wurde schrittweise von 4 nN auf 120 nN erhöht. Um die Robustheit des Materials und den Einfluss der Messung auf die Probe zu ermitteln, wurde außerdem nach jeder einzelnen Belastungsmessung ein *PeakForce QNM*-Bild mit 3 nN Maximalkraft aufgenommen, um die Veränderung der Oberflächenstruktur im belasteten Bereich zu vermessen. Der in diesen Kontrollaufnahmen abgebildete Oberflächenbereich beinhaltete sowohl den in der Belastungsmessung beanspruchten Bereich als auch die ungestörte Umgebung dieses Bereiches.

Oberflächengebundene Polymer- und Peptid-Polymerfilme

Für die Charakterisierung der Polymer- und Peptid-Polymer-Oberflächenfilme wurden ein Ellipsometer (EP3, Accurion, Germany) und zwei Rasterkraftmikroskope der Typen Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) und Cypher (Asylum Research, Santa Barbara, USA) verwendet. Die Ellipsometrie Messungen wurden von der Arbeitsgruppe „Makromolekular Chemie und Papierchemie“ von Prof. Markus Biesalski durchgeführt. Die verwendeten Rasterkraftmikroskope wurden in drei verschiedenen Messmoden (Kontaktmodus, *Tapping*-Modus und *PeakForce QNM*-Modus) betrieben. Im *Tapping*-Modus wurden in diesem Zusammenhang topographische Aufnahmen sowohl an

der Luft mit einem ZEHR-Federbalken (siehe Tabelle 3.2) als auch in Flüssigkeit mit einem SNL-Federbalken (siehe Tabelle 3.2) aufgenommen, um die Schichtdicken der einzelnen Beschichtungen sowie das Quellverhalten in Flüssigkeit zu untersuchen. Für die quantitative Vermessung der nano-mechanischen Oberflächeneigenschaften der Polymer- und Peptid-Polymer-Netzwerke wurden Messungen im *PeakForce QNM*-Modus aufgenommen. Während dieser Messungen wurden Kraft-Abstands-Kurven mit einer Aufnahmefrequenz von 2 kHz aufgenommen (d.h. 2000 Kraft-Abstands-Kurven wurden pro Sekunde aufgenommen und gespeichert). Aus diesen Daten wurde anschließend mit der Aufnahmesoftware die laterale Verteilung der Elastizität der Probenoberfläche sowie die laterale Verteilung der Adhäsionskraft bestimmt. Dabei wurde ein NSC14/AIBS (siehe Tabelle 3.2) Federbalken verwendet. Für eine quantitative Validierung der im *PeakForce QNM*-Modus aufgenommenen elastischen Eigenschaften wurden statische Kraft-Abstands-Kurven des Polymer-Netzwerks an der Luft mit einem LRCH-Federbalken (siehe Tabelle 3.2) aufgenommen. Die statischen Kraft-Abstands-Kurven wurden mit einer Aufnahmezeit von 1 Hz aufgenommen, das heißt es wurde pro Sekunde nur eine Kurve gemessen und gespeichert. Die nominelle Federkonstante betrug in diesem Fall $k = 0.7 \text{ N/m}$ und die Resonanzfrequenz lag bei 45 kHz.

4.4. Datenauswertung

Das folgende Unterkapitel beschreibt die im Rahmen dieser Arbeit angewandten Auswerteverfahren und Algorithmen, die zur Bestimmung von topographischen Informationen und anderen Oberflächencharakteristiken verwendet wurden.

Antikörper

Aus den *PeakForce QNM*-Aufnahmen der humanen IgG- und IgM-Proben wurden für eine strukturelle Analyse der Makromoleküle Topographiedaten extrahiert. Diese wurden zeilenweise mit einem sog. Ausgleichsfilter (*engl. flattening filter*) bearbeitet, um die Antikörperoberfläche besser visualisieren zu können. Außerdem wurde in den Daten enthaltenes hochfrequentes Rauschen mit einem Tiefpass-Filter (*engl. low-pass filter*) entfernt.

Hochaufgelöste Messbilder, welche die laterale Verteilung der nanomechanischen Probeneigenschaften wie Adhäsion, Elastizität, Deformation und Energiedissipation enthalten, wurden schon während der Messung durch die Aufnahmesoftware NANOSCOPE (Bruker AXS, Deutschland) auf Basis der in Abschnitt 2.4.3 beschriebenen theoretischen Annahmen berechnet.

Um die Ergebnisse der Auswertesoftware zu bestätigen, wurden einzelne Kraft-Abstands-Kurven aus den *PeakForce QNM*-Messungen zusätzlich mit einer eigens hierfür entwickelten MATLAB-Routine auf der Basis des Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modells⁵⁰ analysiert.

Polypropylen

Die für jeden Ätzschritt auf den ePP-Oberflächen gemessenen *PeakForce QNM*-Daten enthalten eine komplette Kraft-Abstands-Kurve in jedem lateralen Messpunkt. Für einen bestimmten Ätzschritt n erhält man so einen zweidimensionalen $M \times N$ Datensatz \mathbf{F}_n ,

der an jeder lateralen Position $\{(k, l) | k \in \mathbb{N}_+ : k < M, l \in \mathbb{N}_+ : l < N\}$ eine Kraft-Abstands-Kurve $F_{n,k,l}$ enthält. In der folgenden Beschreibung wird der Index n nur dann mit aufgeführt, wenn der Ätzschritt für den beschriebenen Zusammenhang von Interesse ist.

Die Kraft-Abstandsdaten aus den *PeakForce QNM*-Messungen wurden noch während der Messung durch das Aufnahmeprogramm des Geräteherstellers vorverarbeitet. Dabei wurden Oberflächentopographien extrahiert, die für die Visualisierung der Oberflächenstrukturen und die Rauigkeitsbestimmung mit einer Ebenen-Korrektur erster Ordnung (*engl. first order flattening*) nachbearbeitet wurden.

Die Topographiedaten wurden benutzt, um die *rms*-Rauigkeit der Probenoberfläche auf einem Oberflächenausschnitt der Größe $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ zu ermitteln.

Außerdem wurden durch die Aufnahmesoftware, auf der Basis der in Abschnitt 2.3.1 und Abschnitt 2.4.3 beschriebenen mathematischen Zusammenhänge, aus $F_{n,k,l}$ die folgenden nano-mechanischen Eigenschaften für jede laterale Position (k, l) berechnet und in eigenen Ausgabekanälen exportiert.

- Der **Elastizitätskanal** $E_{k,l}$ beinhaltet den Elastizitätsmodul, der aus der Wegfahrkurve (*engl. retrace-curve*) der jeweiligen Kraft-Abstands-Kurve $F_{k,l}$, nach dem Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modell⁵⁰, berechnet wird.
- Der **Adhäsionskanal** $A_{k,l}$ enthält für jeden Messpunkt den Kraft-Wert des Minimums der *retrace-curve*. An diesem Punkt ist die negative Kraft des Federbalkens gerade genau so groß wie die adhäsive Kraft zwischen Messspitze und Oberfläche.
- Im **Dissipationskanal** $D_{k,l}$ ist für jeden Punkt der Messung der Wert der dissipierten Energie gespeichert, die während eines Messzyklus vom Federbalken an die Probe übertragen wird.
- Der **Deformationskanal** $I_{k,l}$ beinhaltet die Eindringtiefe und somit ein Maß für die maximale physikalische Verformung der Probe an jedem lateralen Punkt der Messung.

Für die folgende strukturelle Analyse wurden sowohl die Topographieinformationen als auch die nanomechanischen Informationen aus den oben beschriebenen Kanälen von der Messsoftware in ASCII Dateien exportiert, um sie mit Hilfe einer zu diesem Zweck entwickelten MATLAB-Routine weiter auswerten zu können.

In der MATLAB-Auswertung wurde für jeden Ätzschritt auf der Basis der im Elastizitätskanal enthaltenen Daten und mit zwei Grenzwertparametern t_c und t_a eine Klassifizierung der Messdaten vorgenommen. Dabei wurde jeder Position (k, l) in der Messung eine der folgenden Materialklassen zugeordnet:

- Kristalline Bereiche zeichnen sich durch hohe Elastizitätsmodule aus:

$$\mathcal{C} = \{(k, l) | k \in \mathbb{N}_+ : k < M, l \in \mathbb{N}_+ : l < N, E_{k,l} > t_c\}. \quad (4.1)$$

- Amorphe Bereiche sind vergleichsweise weich:

$$\mathcal{A} = \{(k, l) \mid k \in \mathbb{N}_+ : k < M, l \in \mathbb{N}_+ : l < N, E_{k,l} < t_a\}. \quad (4.2)$$

- Bildbereiche, die nicht eindeutig einer der obigen Klassen zugeordnet werden können, werden als Mischbereich klassifiziert:

$$\mathcal{J} = \{(k, l) \mid k \in \mathbb{N}_+ : k < M, l \in \mathbb{N}_+ : l < N, t_a < E_{k,l} < t_c\}. \quad (4.3)$$

Die Wahl der Grenzwertparameter t_c und t_a spielt für die oben beschriebene Klassifizierung eine bedeutende Rolle. Die im Rahmen dieser Arbeit benutzte Strategie zur Bestimmung dieser Parameter ist in Abbildung 4.7 gezeigt. Für jeden Ätzschritt n wurde ein Histogramm (b) des Elastizitätskanals $E_{n,k,l}$ (a) berechnet. Danach wurden die Schnittpunkte der einhüllenden Funktion des Histogramms mit einer Linie bei 30% der maximalen Häufigkeit ermittelt (c). Bildbereiche mit Elastizitätswerten, die kleiner sind als der linke Schnittpunkt (blaue Bereiche in Abbildung 4.7 (c) und (d)), gehören zur Klasse \mathcal{A} , und Bereiche mit Elastizitätswerten größer als der rechte Schnittpunkt (rote Bereiche in Abbildung 4.7 (c) und (d)) gehören zu \mathcal{C} .

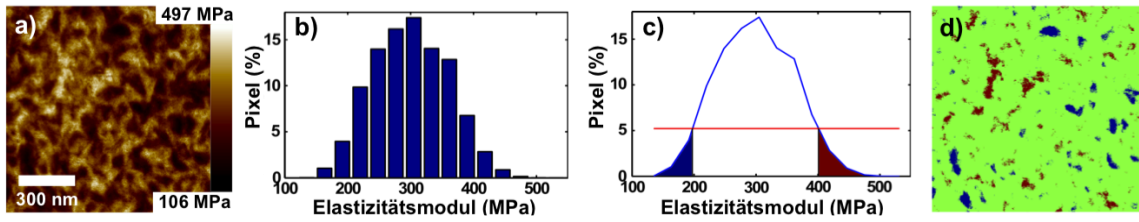


Abbildung 4.7 (a) Elastizitätsdaten aus dem Elastizitätskanal $E_{k,l}$. (b) Dieses Histogramm zeigt die Häufigkeitsverteilung der Elastizitätswerte in $E_{n,k,l}$. (c) Schematische Darstellung des Verfahrens zur Bestimmung der zwei Grenzwerte t_a und t_c aus den Schnittpunkten einer Geraden mit der äußeren einhüllenden Funktion des Histogramms. (d) Abbildung der in der Klassifizierung $\mathcal{M} = \{\mathcal{J}, \mathcal{A}, \mathcal{C}\}$ enthaltenen Bereiche. Kristalline Bereiche sind hier rot, Mischbereiche grün und amorphe Bereiche blau dargestellt. (Reprinted (adapted) with permission from “Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene”, Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Das Ergebnis dieser Klassifizierung ist ein Tensor $\mathcal{M} = \{\mathcal{J}, \mathcal{A}, \mathcal{C}\}$, der jeden Punkt im Bild einer bestimmten Materialklasse zuordnet. Diese Information kann genutzt werden, um generelle Aussagen über die verschiedenen Materialklassen im semikristallinen Festkörper treffen zu können. Für eine beliebige nanomechanische Eigenschaft $X_{n,k,l} \in \{E_{k,l}, A_{k,l}, D_{k,l}, I_{k,l}\}$ lassen sich nun wie folgt Durchschnittswerte ($\bar{X}_{\mathcal{A}}$ und $\bar{X}_{\mathcal{C}}$) und Schwankungen ($\langle X_{\mathcal{A}} \rangle$ und $\langle X_{\mathcal{C}} \rangle$) für die kristallinen und die amorphen Bereiche im Bild ermitteln:

$$\bar{X}_{\mathcal{A}} = \frac{1}{\|\mathcal{A}\|} \sum_{k,l} X_{k,l} \text{ mit } (k, l) \in \mathcal{A}, \quad (4.4)$$

$$\bar{X}_{\mathcal{C}} = \frac{1}{\|\mathcal{C}\|} \sum_{k,l} X_{k,l} \text{ mit } (k, l) \in \mathcal{C}, \quad (4.5)$$

$$\langle X_{\mathcal{A}} \rangle = \sqrt{\frac{1}{\|\mathcal{A}\|} \sum_{k,l} (X_{k,l} - \bar{X}_{\mathcal{A}})^2} \text{ mit } (k,l) \in \mathcal{A}, \quad (4.6)$$

$$\langle X_{\mathcal{C}} \rangle = \sqrt{\frac{1}{\|\mathcal{C}\|} \sum_{k,l} (X_{k,l} - \bar{X}_{\mathcal{C}})^2} \text{ mit } (k,l) \in \mathcal{C}. \quad (4.7)$$

In diesen Gleichungen steht $\|\mathcal{A}\|$ und $\|\mathcal{C}\|$ für die Anzahl der Messpunkte in der jeweiligen Materialklasse.

Mit den in den Gleichungen (4.4) und (4.5) angegebenen Mittelwerten lassen sich so, durch die Analyse der einzelnen Ätzschritte, Tiefenprofile der einzelnen nanomechanischen Eigenschaften der kristallinen und amorphen Bereiche in der semikristallinen ePP-Oberflächenbeschichtung bestimmen (siehe: linke Spalte in Abbildung 5.7). Die in (4.6) und (4.7) angegebenen Standardabweichungen geben dabei ein Maß für die Streuung der jeweiligen Messgröße innerhalb der Materialklasse an.

Zur Bestätigung der aus den *PeakForce QNM*-Messungen extrahierten elastischen Probeneigenschaften wurden zusätzlich an einigen Stellen der Probe noch statische Kraft-Abstands-Kurven mit dem Dimension Icon (Bruker AXS, Deutschland) Rasterkraftmikroskop aufgenommen. Diese wurden zur Weiterverarbeitung als .txt Dateien exportiert und in einer eigens dafür entwickelten MATLAB-Routine auf der Basis des Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modells⁵⁰ analysiert.

Oberflächengebundene Polymer- und Peptide-Polymer-Netzwerke

Die mit dem Ellipsometer (EP3, Accurion, Germany) aufgenommenen Oberflächen-Topographiedaten der Polymer-Monolagen sowie der oberflächengebundenen Polymer- und Peptid-Polymer-Netzwerke wurden in der Herstellersoftware des Gerätes ausgewertet. Dabei wurden Höhenprofile der verschiedenen Oberflächenbeschichtungen aus den aufgenommenen Topographiedaten extrahiert. Diese Höhenprofile wurden in der folgenden Auswertung benutzt, um die jeweilige Filmdicke der Beschichtung zu ermitteln.

Zur Verifizierung der Ellipsometrie-Daten wurden die mit dem Dimension Icon (Bruker AXS, Deutschland) aufgenommenen *PeakForce QNM*- und *Tapping*-Modus Daten verwendet. Dafür wurde vor den Messungen, mit einer scharfen Kanüle, jeweils ein Kratzer in die verschiedenen Oberflächenbeschichtungen geritzt. Die aus den *PeakForce QNM*-Daten gewonnenen Oberflächentopographien wurden in der NANOSCOPE-Software mit einer Ebenen-Korrektur erster Ordnung (*engl. first order flattening*) horizontal ausgerichtet. Danach wurden auch aus diesen Daten für die verschiedenen Polymerbeschichtungen Höhenprofile extrahiert. Aus der Höhe der Beschichtung, relativ zur Substratoberfläche in den Kratzern, konnte so die Filmdicke ermittelt werden. Die zusätzlich in den *PeakForce QNM*-Daten enthaltene Information über die elastischen Oberflächeneigenschaften (siehe Abschnitt 2.4.3) wurden ohne weitere Verarbeitung gespeichert.

Für die Bestimmung der *rms*-Oberflächenrauigkeit, der Monolagen und der oberflächengebundenen Netzwerk-Beschichtungen wurden in der Herstellersoftware NANOSCOPE (Bruker AXS, Deutschland) die Oberflächentopographien mit einer Ebenen-Korrektur 1. Ordnung bearbeitet und dann die *rms*-Rauigkeit nach (2.66) berechnet.

Methoden

Die mit dem Cypher-AFM aufgenommen statischen Kraft-Abstands-Kurven des Polymer-Netzwerks wurden mit der Cypher-Software ausgewertet und mit den Ergebnissen aus dem *PeakForce QNM*-Modus verglichen.

5. Ergebnisse

Die Ergebnisse der im vorherigen Kapitel beschriebenen Experimente zur Charakterisierung von synthetischen und biologischen Proben mit verschiedenen rasterkraftmikroskopischen Verfahren werden im Folgenden zusammengefasst. Dabei ist das Kapitel entsprechend der verschiedenen Proben und experimentellen Verfahren gegliedert. Der erste Abschnitt beschreibt die Ergebnisse der hochaufgelösten Vermessung der topographischen und nanomechanischen Oberflächeneigenschaften von humanen Antikörpern. Im darauffolgenden Abschnitt werden die schichtweise aufgenommenen Oberflächeneigenschaften von semikristallinem ePP ausgewertet und interpretiert. Am Ende dieses Kapitels werden die Ergebnisse der systematischen Oberflächen-Charakterisierung von synthetischen Polymer-Netzwerken sowie von bioaktiven Peptid-Polymer-Beschichtungen und von Peptid-Polymer-Monolagen zusammengefasst.

5.1. Mechanische Eigenschaften von IgM mit 10 nm lateraler Auflösung in Flüssigkeit

Die auf Mica-Oberflächen verankerten humanen Ig-Makromoleküle wurden durch hochaufgelöste *PeakForce QNM*-Messungen nanomechanisch und topographisch charakterisiert. Dabei wurden alle Messungen an Antikörpern in ultrareinem deionisierten Wasser (Milli-Q-Wasser) bei pH 5.4 durchgeführt.

Probentopographie

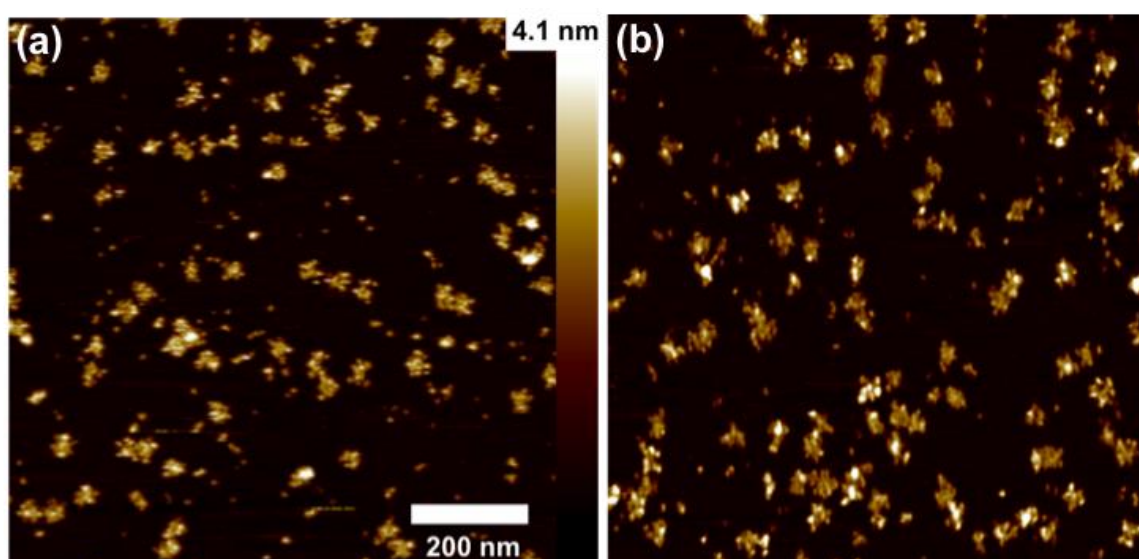


Abbildung 5.1: Topographische Aufnahme von IgM-Antikörpern, die auf Mica-Substrat haften. Beide Aufnahmen wurden im *PeakForce QNM*-Modus in flüssiger Umgebung aufgenommen (a) unter Verwendung eines ScanAsyst-Fluid-Federbalken und (b) mit einem SNL-Federbalken. (Springer and the original publisher (Tsinghua University Press / Nano Research, 2015, *Quantitative measurement of the mechanical properties of human antibodies with sub-10-nm resolution in a liquid environment*, Agnieszka Voss, Christian Dietz, Annika Stocker, Robert Stark, five figures, *Nano Res.*; DOI 10.1007/s12274-015-0710-5 - (C) Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015) is given to the publication in which the material was originally published, by adding; with kind permission from Springer Science and Business Media.)

Wie in den Topographie-Aufnahmen in Abbildung 5.1 gezeigt ist, liegt eine homogene, nicht zu dichte Verteilung der Antikörper auf dem Substrat vor, in der sich einige der

Makromoleküle adhäsiv zu kleinen Gruppen von zwei bis drei Molekülen zusammengeslossen haben. Für die Messung der in Abbildung 5.1 (a) gezeigten Topographie wurde ein ScanAsyst-Fluid-Federbalken verwendet, und die in Abbildung 5.1 (b) gezeigte Aufnahme wurde mit einem SNL-Federbalken aufgenommen. Es zeigte sich, dass mit beiden Federbalkentypen Daten mit gleicher lateraler Auflösung und vergleichbarer Qualität aufgenommen werden konnten.

Obwohl bei den meisten IgM-Molekülen die in Abschnitt 3.1 beschriebene typische pentagonale molekulare Substruktur zu erkennen ist, variieren die Größe und die Form der hier abgebildeten Strukturen leicht. Dies liegt an der unterschiedlichen Ausrichtung der molekularen Sub-Domänen relativ zum Rumpf des Makromoleküls und ist ein Beleg für die von Perkins et al.⁸⁷ beschriebene hohe mechanische Flexibilität von Immunglobulin-Molekülen.

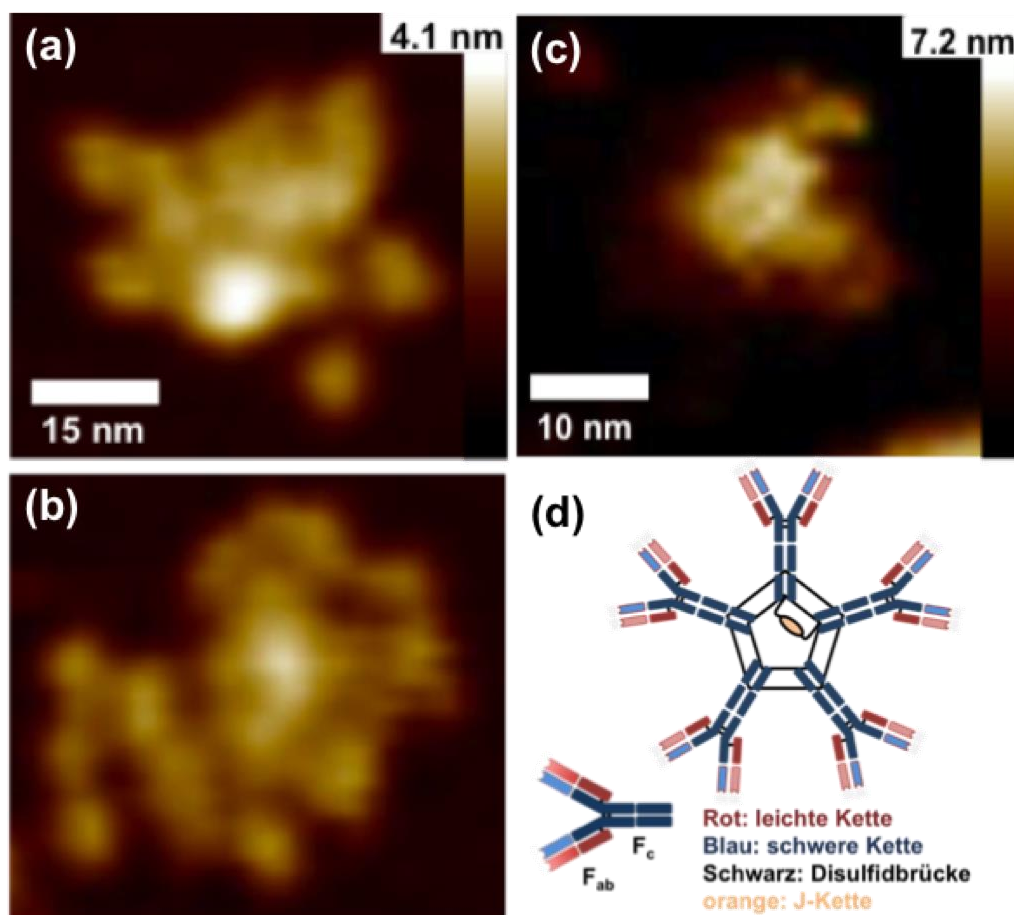


Abbildung 5.2: (a) und (b) zeigen hochauflöste Topographie-Aufnahmen von IgM-Antikörpern, aufgenommen in flüssiger Umgebung mit einem SNL-Federbalken, (c) hochauflöste Topographie-Aufnahme eines auf der Mica-Oberfläche anhaftenden IgG-Antikörpers, aufgenommen mit einem ScanAsyst-Fluid-Federbalken in flüssiger Umgebung. (d) Schematische Darstellung der Substrukturen eines IgM-Makromoleküls (oben) und eines IgG-Makromoleküls (unten). (Springer and the original publisher (Tsinghua University Press / Nano Research, 2015, *Quantitative measurement of the mechanical properties of human antibodies with sub-10-nm resolution in a liquid environment*, Agnieszka Voss, Christian Dietz, Annika Stocker, Robert Stark, five figures, *Nano Res.*; DOI 10.1007/s12274-015-0710-5 - (C) Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015) is given to the publication in which the material was originally published, by adding; with kind permission from Springer Science and Business Media.)

Mit dem ScanAsyst-Fluid-Federbalken wurden außerdem *PeakForce QNM*-Aufnahmen von auf Mica-Substrat haftenden IgG-Antikörpern in flüssiger Umgebung aufgenommen. Hochaufgelöste Detailaufnahmen von ausgewählten IgM- und IgG-Molekülen sind in Abbildung 5.2 (a) - (c) gezeigt. Zum Vergleich ist in Abbildung 5.2 (c) eine schematische Skizze der zwei Ig-Typen abgebildet. Darin ist die pentagonale Substruktur der IgM-Sub-Domänen sowie die Y-förmige Substruktur der IgG-Moleküle ersichtlich. Eine genauere Beschreibung des strukturellen Aufbaus dieser Makromoleküle ist in Abschnitt 3.1 zu finden. In der in Abbildung 5.2 (c) gezeigten hochaufgelösten Topographie-Aufnahme eines IgG-Makromoleküls ist die in (d) skizzierte Y-förmige Struktur deutlich zu erkennen. Die Abbildungen (a) und (b) zeigen jeweils IgM-Antikörper, aufgenommen mit SNL-Federbalken. Auch hier ist eine Ähnlichkeit mit der in (d) gezeigten Struktur zu erkennen. Wie im vorhergehenden Abschnitt erwähnt, kann die Lage der Sub-Domänen wegen der hohen mechanischen Elastizität abweichen. Generell stimmten die in den hochaufgelösten Aufnahmen beobachteten Makromoleküle sowohl in Struktur als auch in lateraler Ausdehnung mit den Beschreibungen aus anderen Studien z.B. von Makky et al.¹¹⁸ und Martínez et al.¹¹⁹ überein.

Für eine genauere strukturelle und nanomechanische Analyse wurden exemplarisch zwei IgM-Makromoleküle ausgewählt. Diese Moleküle wurden dann mit einer sehr hohen Auflösung durch *PeakForce QNM*-Messungen in flüssiger Umgebung vermessen. Die aus den *PeakForce QNM*-Daten extrahierten topographischen Datensätze sind in Abbildung 5.3 (a) und (b) in der oberen Zeile gezeigt. Hier ist zu erkennen, dass es mit der verwendeten Aufnahmetechnik möglich war, sub-molekulare Strukturen aufzunehmen, die nur wenige Nanometer groß sind. Für die exakte Vermessung der topographischen Information wurde in beiden Abbildungen jeweils ein Höhenprofil zwischen den beiden roten Pfeilen extrahiert. In den Höhenprofilen in der unteren Zeile von Abbildung 5.3 ist die hohe laterale Auflösung sowie die hohe Tiefenauflösung noch einmal deutlich zu erkennen.

Aus den Höhenprofilen wurde eine durchschnittliche Molekülhöhe von 2.2 nm für die IgM-Moleküle ermittelt. Dieses Ergebnis ist deutlich kleiner als die von Munn et al.¹²⁰ in Seitenansichts-Experimenten (*engl. edge-on view experiments*) mit einem Rasterelektronenmikroskop beobachteten 4 - 10 nm. Als Ursache für diese Diskrepanz kommen zwei Effekte in Frage, die zu einer Unterschätzung der Molekülhöhe führen können. Am wahrscheinlichsten ist, dass der in Abbildung 5.4 (h) ersichtliche Unterschied der elastischen Deformationen zwischen der Mica-Substrat-Oberfläche und dem IgM-Molekül die Ursache ist. Dieser Unterschied der Oberflächendeformation kann, wie von Knoll et al.¹²¹ beschrieben, zu einer Überkompensation der z-Verschiebeeinheit führen, die wiederum zu einem Versatz (*engl. offset*) zwischen der Höhenmessung auf harten und weichen Materialien führen kann. Eine zweite mögliche Erklärung für die oben beschriebene Diskrepanz zwischen der gemessenen Molekülhöhe und den Werten in der Literatur können Unterschiede in der Stärke der attraktiven Wechselwirkung (elektrostatische Kräfte und Van-der-Waals-Kräfte) zwischen Messspitze und Substrat bzw. Messspitze und Makromolekül sein, was ebenfalls zu einer Überkompensation durch die z-Regeleinheit führen kann.

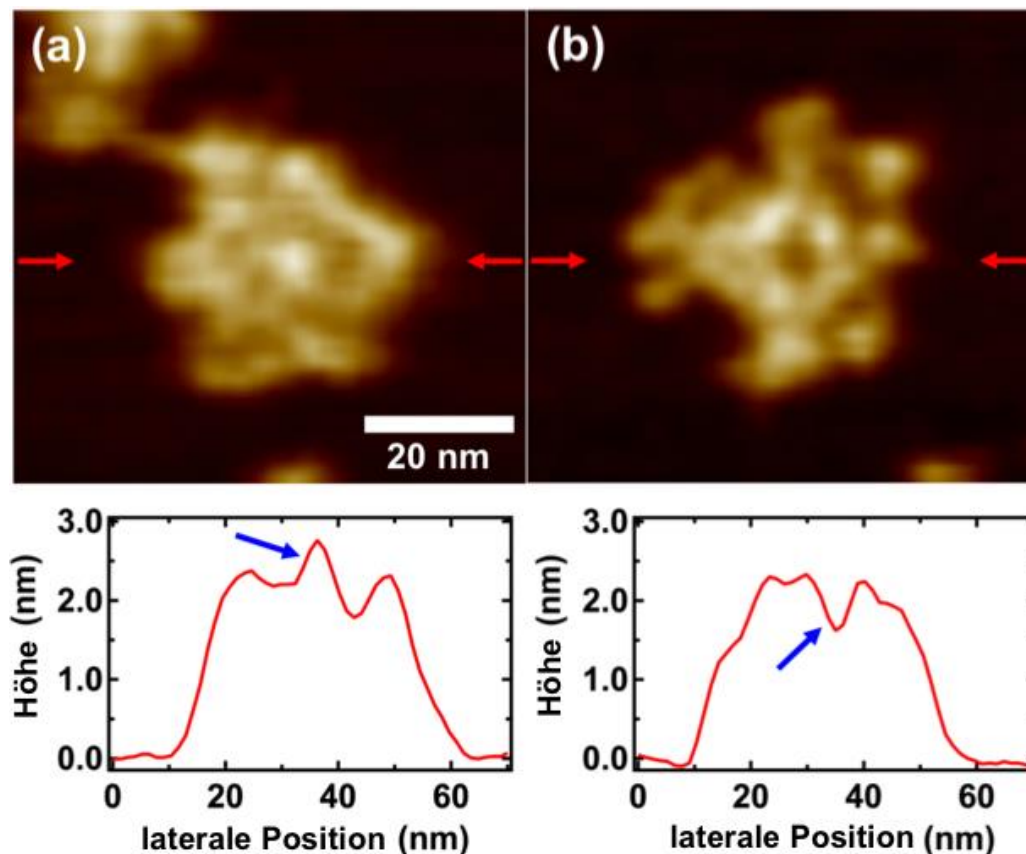


Abbildung 5.3: Stark vergrößerte, hochaufgelöste Oberflächentopographie von einzelnen menschlichen IgM-Makromolekülen, vermessen im PeakForce QNM-Modus in flüssiger Umgebung. Die Aufnahmen zeigen IgM-Moleküle in zwei möglichen Ausrichtungen. In der Aufnahme (a) ist die J-Kette auf der Oberseite des Molekülrumpfes und sorgt so für eine lokale Erhebung von etwa 0.5 nm Höhe (blauer Pfeil im Höhenprofil). Die zweite mögliche Molekülausrichtung (b) hat im Bereich des Makromolekülrumpfes eine Vertiefung von etwa 0.5 nm. (Springer and the original publisher (Tsinghua University Press / Nano Research, 2015, Quantitative measurement of the mechanical properties of human antibodies with sub-10-nm resolution in a liquid environment, Agnieszka Voss, Christian Dietz, Annika Stocker, Robert Stark, five figures, Nano Res.; DOI 10.1007/s12274-015-0710-5 - (C) Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015) is given to the publication in which the material was originally published, by adding; with kind permission from Springer Science and Business Media.)

Auch die laterale Molekülausdehnung lässt sich aus den Höhenprofilen in Abbildung 5.3 abschätzen. Bei der Bestimmung der IgM-Molekülgröße muss allerdings wegen der in Abschnitt 2.6 beschriebenen Abbildungsfehler von Rasterkraftmikroskopen der Messspitzenradius ($R = 7 \text{ nm}$) berücksichtigt werden, da die mit Rasterkraftmikroskopen aufgenommenen Topographien nie die reine Probestopographie, sondern immer die geometrische Faltung der Messspitzenform mit der Probestopographie enthalten.¹²² Korrigiert man die Breite von etwa 42 nm um den Einfluss des Messspitzenradius, so erhält man einen Makromoleküldurchmesser von etwa 28 nm. Aufgrund der hohen Auflösung kann man auch einzelne molekulare Substrukturen eindeutig identifizieren. So lassen sich in Abbildung 5.3 (b) deutlich zusammengehörige F_{ab} -Domänen erkennen, die aus dem Molekülrumpf herausragen. Die korrigierte Länge der F_{ab} -Domänen beträgt etwa 7 nm, und der Durchmesser des Molekülrumpfes, bestehend aus 5 F_c -Domänen, lässt sich auf etwa 18 nm abschätzen. Diese Abmessungen stehen in guter Übereinstimmung mit denen aus vorherigen Studien.¹²³⁻¹²⁵ Beim Vergleich der beiden in Abbildung 5.3 gezeigten Höhen-

profile fällt außerdem ein Unterschied in der Struktur der Molekülmitte auf, der so bei vielen Molekülen beobachtet werden konnte. Während das Molekül in Abbildung 5.3 (a) in der Mitte des Molekülrumpfes eine etwa 0.5 nm hohe Erhebung hat, zeigt sich bei dem in Abbildung 5.3 (b) abgebildeten Molekül an der gleichen Stelle eine Vertiefung. Diese Erhöhung gehört mit großer Wahrscheinlichkeit zur J-Kette, die in Abbildung 5.3 (a) nach oben aus dem Molekül herausragt und in Abbildung 5.3 (b) entweder nach unten zeigt oder, wie von Wiersma et al.¹²⁶ beschrieben, bei diesem IgM-Makromolekül ganz fehlt.

Nanomechanische Eigenschaften der Makromoleküle

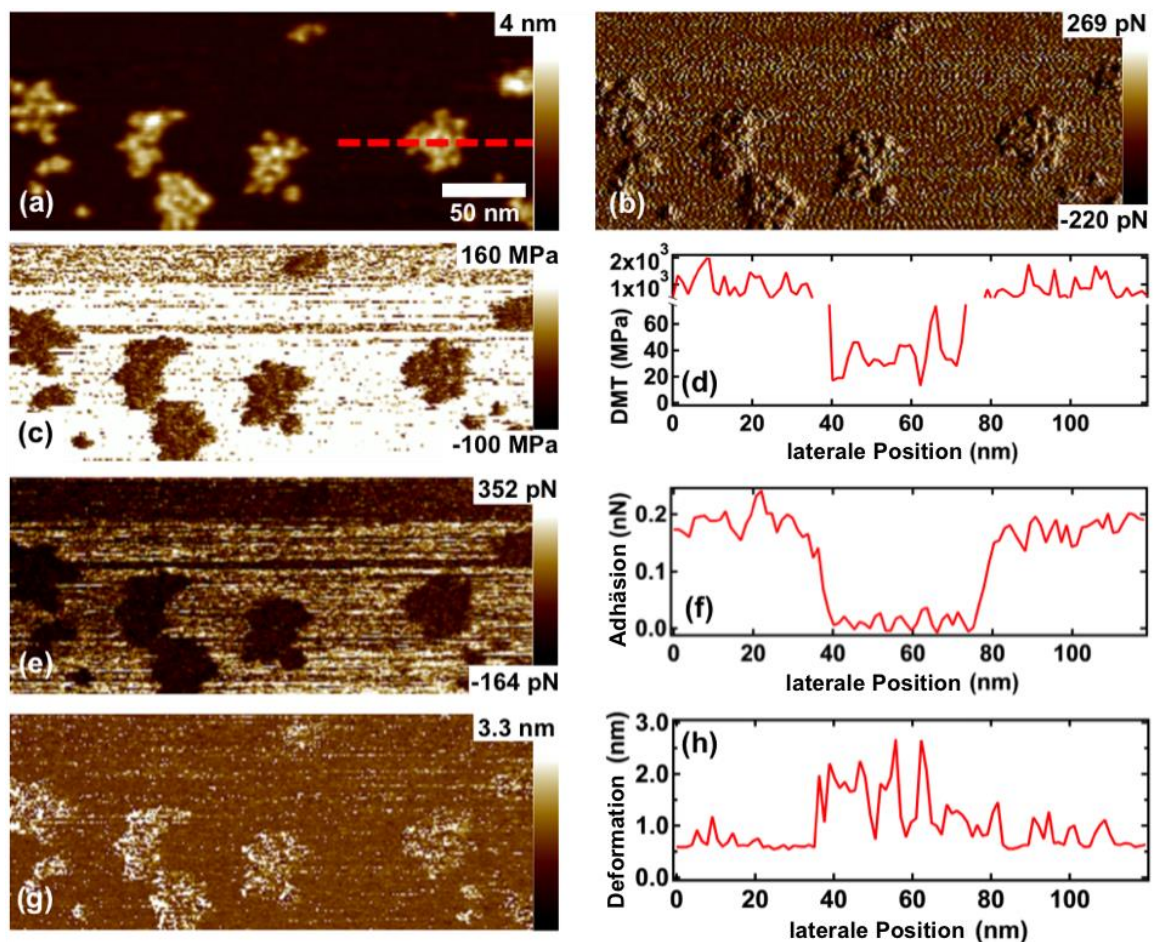


Abbildung 5.4: Übersicht über die nanomechanischen Eigenschaften von menschlichen IgM-Antikörpern aus einer PeakForce QNM-Messung in einer flüssigen Umgebung mit $\text{pH} = 5.4$. (a) zeigt die aus den Messdaten extrahierte Probentopographie. (b) ist eine Darstellung des Rückkopplungs-Regelkreis-Fehlers (engl. feedback loop error). Die laterale Verteilung der Oberflächenelastizität ist in (c) gezeigt. Das in (d) gezeigte Elastizitätsprofil wurde aus dem mit der roten Linie in (a) markierten Bereich bestimmt ($120 \text{ nm} \times 13 \text{ nm}$). Für eine bessere Visualisierung ist die Ordinate, zweigeteilt und die zwei Bereiche sind unterschiedlich skaliert. (e) zeigt die laterale Verteilung der Adhäsionskraft, während (f) ein Adhäsionskraft-Profil des in (a) markierten Bereichs enthält. (g) und (h) zeigen die aus den PeakForce QNM-Daten extrahierten Deformationsinformationen und ein zugehöriges Profil des oben erwähnten Bereiches. (Springer and the original publisher (Tsinghua University Press / Nano Research, 2015, Quantitative measurement of the mechanical properties of human antibodies with sub-10-nm resolution in a liquid environment, Agnieszka Voss, Christian Dietz, Annika Stocker, Robert Stark, five figures, Nano Res.; DOI 10.1007/s12274-015-0710-5 - (C) Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015) is given to the publication in which the material was originally published, by adding; with kind permission from Springer Science and Business Media.)

Neben den hochauflösenden Topographieinformationen lassen sich aus den im *PeakForce QNM*-Modus aufgenommenen Daten weitere mechanische Oberflächeneigenschaften mit der gleichen Auflösung extrahieren. Eine Übersicht der ermittelten Oberflächeneigenschaften ist in Abbildung 5.4 gezeigt.

Zur Orientierung zeigt Abbildung 5.4 (a) eine Topographie-Aufnahme von 5 einzelnen IgM-Makromolekülen in einem $(332 \times 128) \text{ nm}^2$ großen Messbereich. Für die *PeakForce QNM*-Messung wurde eine Maximalkraft (*engl. peak force*) von 800 pN eingestellt. Die durch den Fehler-Regelkreis hervorgerufene Standardabweichung (*engl. feedback loop error*) (siehe Abbildung 5.4) betrug 16 pN. Die für jeden Pixel nach dem Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modell⁵⁰ berechneten Elastizitätswerte sind in Abbildung 5.4 (c) als Bild dargestellt. Um die vermessenen Strukturen besser sichtbar zu machen, wurde das untere Ende der angepassten Farbskala auf -100 gesetzt, obwohl keine negativen Elastizitätswerte gemessen wurden. Zu Analyse Zwecken wurden außerdem Profile der verschiedenen nanomechanischen Eigenschaften an einem einzelnen Makromolekül, entlang der roten gestrichelten Linie in Abbildung 5.4 (a), extrahiert. Abbildung 5.4 (d) zeigt den Verlauf des Elastizitätsmoduls. Hier wird der extreme Elastizitätsunterschied zwischen dem weichen Antikörper-Molekül mit einem mittleren Youngschen Modulus von $(34 \pm 10) \text{ MPa}$ und der wesentlich härteren Mica-Oberfläche mit einem mittleren Youngschen Modulus von $(1.3 \pm 0.4) \text{ GPa}$ deutlich. Dabei ist zu beachten, dass die Ordinate für eine bessere Visualisierung geteilt wurde und, dass die Elastizitätswerte der Antikörper mit einer anderen Skalierung abgebildet wurden als die Werte des Mica-Substrats.

Abbildung 5.4 (e) zeigt die laterale Verteilung der Oberflächenadhäsion. Der Verlauf des Adhäsionsprofils in Abbildung 5.4 (f) ermöglicht die Berechnung einer durchschnittlichen Oberflächenadhäsion. Auf der Substratoberfläche konnte so eine mittlere Adhäsionskraft von $(174 \pm 22) \text{ pN}$ ermittelt werden, während auf der Makromoleküloberfläche keine nennenswerte Adhäsionskraft gemessen wurde. Die ermittelten Deformationsdaten für den in Abbildung 5.4 (a) gezeigten Probenbereich sind in Abbildung 5.4 (g) dargestellt, außerdem wurde, wie für die anderen Oberflächencharakteristiken, auch ein Oberflächenprofil für einen einzelnen IgM-Antikörper extrahiert (siehe Abbildung 5.4 (h)). Die mittlere Oberflächendeformation der Mica-Substrat-Oberfläche betrug dabei $(0.7 \pm 0.1) \text{ nm}$, und $(1.5 \pm 0.5) \text{ nm}$ auf der Moleküloberfläche.

Die nanomechanischen Eigenschaften konnten mit einer ähnlich guten lateralen Auflösung vermessen werden wie die Molekültopographie, wodurch es möglich war, Durchschnittswerte dieser Eigenschaften zu ermitteln. Im Gegensatz zum Topographiebild sind die Substrukturen der einzelnen Makromolekül-Bestandteile nur schwer zu unterscheiden. Der auf dem IgM-Molekül ermittelte Elastizitätsmodul steht in guter Übereinstimmung mit den Werten aus Untersuchungen von Martinez-Martin et al.¹²⁵ Der auf der Mica-Substrat-Oberfläche ermittelte durchschnittliche Elastizitätswert weicht allerdings leicht vom nominellen Elastizitätsmodul (10 GPa) ab. Ein Grund für diese Unterschätzung könnte die geringe Eindringtiefe in das Mica-Substrat während der Elastizitätsmessung sein. Diese geringe Eindringtiefe ist ein Resultat der niedrigen Maximalkraft von 800 pN, die eingestellt wurde, um eine plastische Deformation und destruktive Interaktion der Messspitze mit den weichen Makromolekülen zu verhindern.

Die aufgenommenen Daten zeigen, dass *PeakForce QNM* als Methode geeignet ist, um heterogene Verteilungen der Materialeigenschaften von biologischen Proben zu vermessen, sogar wenn die Probenelastizität um mehrere Größenordnungen variiert. Gerade bei der Vermessung von weichen biologischen Proben auf hartem Substrat-Untergrund ist es wichtig, dass die scharfe Messspitze keinen zu starken lokalen Druck auf die Probe ausübt, der zu einer Oberflächenbeschädigung führen könnte. Aus diesem Grund wurde in den hier beschriebenen Messungen die maximale Kraft während der Aufnahme der Kraft-Abstands-Kurven auf 300 pN bis 800 pN beschränkt. Um zu verifizieren, dass die Messung keine bleibenden Schäden auf der Oberfläche bewirkt, wurden die Abbildungen in einem bestimmten Messbereich mehrmals wiederholt. In den so aufgenommenen Bildern wurde auch nach wiederholter Messung keine Veränderung der Oberflächentopographie und der Elastizität beobachtet.

Bei allen hier durchgeführten Messungen kann ein Einfluss des Mica-Substrats auf die nanomechanischen Eigenschaften nicht ausgeschlossen werden. Dabei beschreiben vergleichende nanomechanische Studien an Amyloid-Fasern, die Rasterkraftmikroskopietechniken wie Nanoindentation, *PeakForce QNM* und Kraft-Spektroskopie miteinander vergleichen, ein ähnliches Elastizitätsverhalten.¹²⁷ Amyloid-Fasern haben im Vergleich mit IgM-Makromolekülen die gleiche Höhe, aber einen etwas höheren Elastizitätsmodul. Nimmt man an, dass die absolute Molekülhöhe der Summe der gemessenen Höhe von etwa 2.2 nm und der Deformation von 1.5 nm entspricht, so würde dies einer relativen Kompression von 40 % entsprechen. Nichtsdestotrotz liefern die gemessenen Werte eine gute Abschätzung der oberen Grenze der Molekülelastizität.¹²⁸ Die hohe laterale Auflösung der Elastizitätsmessungen ermöglicht es, strukturelle Steifigkeitsänderungen der biologischen Proben auf extrem kleinen Skalen aufzulösen.

Der große Unterschied zwischen den Adhäsionskräften, die auf dem Mica-Substrat und auf den Makromolekülen gemessen wurden, ist auf den ersten Blick überraschend. Die Erklärung für dieses Verhalten liefert ein Vergleich der Oberflächenladungen auf dem Mica-Substrat und auf der Si_3N_4 -Messspitze. Betrachtet man die in einer Lösung mit pH 5.4 entstehenden Oberflächenladungen in Abbildung 4.1, so fällt auf, dass Mica darin negativ ist, während die Si_3N_4 -Oberfläche der Messspitze in der Lösung positiv geladen ist. Das neutrale Verhalten der IgM-Makromoleküle lässt sich dadurch erklären, dass der pH-Wert des umgebenden Mediums nah am isoelektrischen Punkt der Antikörper ist.¹¹¹

Die durchschnittliche Deformation der IgM-Moleküle von 1.5 nm ist ausreichend, um den Elastizitätsmodul auf der Basis des in Abschnitt 2.3.1 beschriebenen DMT-Modells⁵⁰ zu bestimmen. Zwar werden die Moleküle bei dieser Eindringtiefe durch die Messspitze eingedrückt, was zur oben erwähnten Abweichung der gemessenen Molekülhöhe führt; durch Wiederholungsmessungen des gleichen Bereichs mit Kräften bis zu 800 pN wurde aber gezeigt, dass es auch nach mehrmaligem Messen zu keinen nennenswerten topographischen oder nanomechanischen Änderungen der Probeneigenschaften kam. Lediglich bei einigen wenigen vermessenen Molekülen änderte sich die Stellung der F_{ab} -Domänen relativ zum Rumpf leicht.

Zur Validierung der von dem Aufnahmeprogramm im *PeakForce QNM*-Modus ermittelten quantitativen Oberflächencharakteristika wurden während der Messung Kraft-Abstands-Kurven aus der Software exportiert und separat ausgewertet. Dabei wurden,

wie in Abbildung 5.5 gezeigt, sowohl Kurven vom Mica-Substrat als auch von IgM-Antikörpern betrachtet. Für die Ermittlung der quantitativen nanomechanischen Eigenschaften wurde das in Abschnitt 2.3.1 beschriebene DMT-Modell mit einer hierfür implementierten MATLAB-Routine an die Messdaten gefittet. Der Fitbereich wurde dabei genau so eingestellt wie in der Aufnahmesoftware. Die mit dieser Methode ermittelten Elastizitätswerte lagen mit $E_{\text{mica}} = 0.52 \text{ GPa}$; $E_{\text{IgM}} = 2.2 \text{ MPa}$ nahe an den von der Aufnahmesoftware berechneten Werten. Aus dem Minimum der auf Mica gemessenen Kraft-Abstands-Kurve ergibt sich eine Adhäsionskraft von 400 pN. In den auf IgM gemessenen Daten sind keine nennenswerten adhäsiven Effekte zu beobachten (siehe blaue Kurve in Abbildung 5.5). Die manuell ausgewertete Oberflächendeformation betrug für die Mica-Substrat-Oberfläche 1.5 nm und 4 nm für das IgM-Molekül. Zusammenfassend betrachtet lagen alle stichprobenhaft manuell ausgewerteten Oberflächeneigenschaften innerhalb des mit der Auswertesoftware für die zwei Oberflächenarten beobachteten Bereichs.

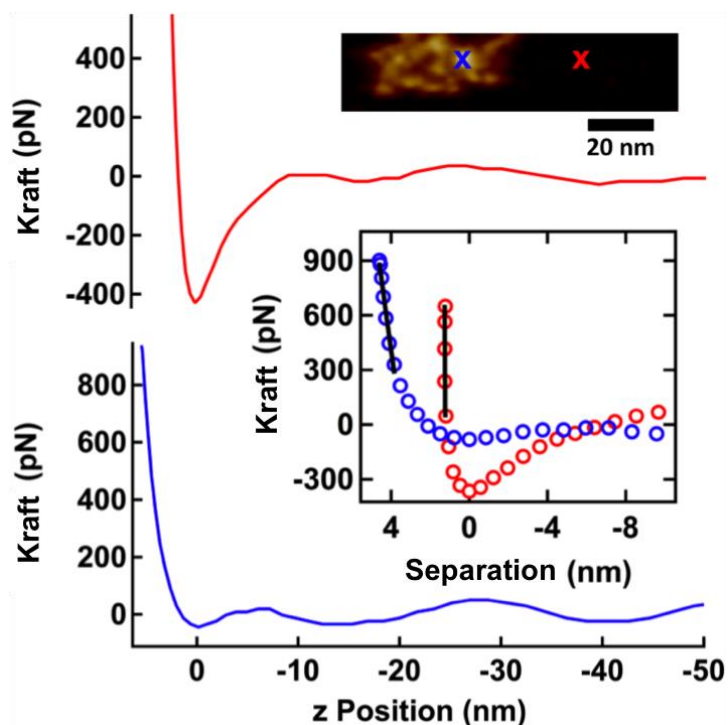


Abbildung 5.5: Kraft-Abstands-Kurven, gemessen auf Mica (rot) und auf IgM-Antikörpern (blau). Die Kreuze in der Topographie-Aufnahme oben rechts markieren die Positionen, an denen die jeweiligen Daten ermittelt wurden. Die Datensätze wurden dabei während der Messung exportiert, die Separation wurde aus der z-Piezo-Position bestimmt. Durch einen Fit des in Abschnitt 2.3.1 beschriebenen DMT-Modells (schwarze Linien) wurden die Youngschen Moduli $E_{\text{mica}} = 0.52 \text{ GPa}$; $E_{\text{IgM}} = 2.2 \text{ MPa}$ mit einem in Matlab implementierten Algorithmus berechnet. (Springer and the original publisher (Tsinghua University Press / Nano Research, 2015, *Quantitative measurement of the mechanical properties of human antibodies with sub-10-nm resolution in a liquid environment*, Agnieszka Voss, Christian Dietz, Annika Stocker, Robert Stark, five figures, Nano Res.; DOI 10.1007/s12274-015-0710-5 - (C) Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015) is given to the publication in which the material was originally published, by adding; with kind permission from Springer Science and Business Media.)

Zusammenfassung: Nanomechanische Oberflächencharakterisierung von humanen Antikörpern

Das in dieser Arbeit angewandte Verfahren zur simultanen Vermessung von topographischen und nanomechanischen Eigenschaften wurde auf biologische Proben mit an Mica-

Substrat anhaftenden humanen IgM- und IgG-Antikörpern angewandt und lieferte strukturelle Daten sowie Informationen über die Verteilung der Adhäsionskräfte, der Elastizität und der Oberflächendeformation mit sehr hoher lateraler Auflösung. Dabei wurden Kraft-Abstands-Kurven mit einer Rate von 2 kHz aufgenommen. In der benutzten Parametrisierung war es möglich, die weichen Makromoleküle in flüssiger Umgebung zu vermessen, ohne diese strukturell zu verändern oder zu beschädigen. Es gelang dabei molekulare Substrukturen wie die F_{ab} -Domänen aufzulösen. Eine genauere Analyse der Topographiedaten ermöglichte dabei zum einen eine Vermessung von einzelnen Moleküldomänen sowie die Lokalisierung der sog. J-Kette am Molekülrumpf. Die Tatsache, dass einige IgM Antikörper ohne J-Kette beobachtet wurden, kann durch ein Fehlen dieser Domäne erklärt werden, oder durch die Tatsache, dass sich die J-Kette bei diesen Makromolekülen auf der dem Mica-Substrat zugewandten Molekül-Rückseite befand. Bemerkenswert ist der große Elastizitätsbereich, der in dieser Arbeit vermessen werden konnte. So konnten simultan die Elastizität des sehr harten Mica-Substrats (1.3 ± 0.4) GPa und die der weichen Biomoleküle (34 ± 10) MPa vermessen werden. Die so ermittelte geringe Steifigkeit und die während der Messung beobachteten Oberflächendeformationen (1.5 ± 0.5) nm, verglichen mit den molekularen Abmessungen der IgM-Moleküle, sind ein Beleg für die enorme Flexibilität der Antikörper. Diese Flexibilität führt zu einer großen Mobilität der Makromoleküle im Organismus und ermöglicht es den Antikörpern, verschiedene Formen anzunehmen, und dadurch an eine Vielzahl von verschiedenen Erregern mit unterschiedlichen Größen und Formen anzudocken.^{4, 5, 7}

5.2. Tiefenaufgelöste Vermessung der mechanischen Eigenschaften von elastomeren Polypropylen

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der strukturellen nanomechanischen Analyse der ePP-Proben beschrieben. In diesem Zusammenhang wurden, wie im Methoden-Kapitel dieser Arbeit beschrieben, dünne Filme aus semikristallinem ePP hergestellt. Während der Vermessung dieser Proben wurden, durch ein chemisches Verfahren, schrittweise dünne Schichten abgetragen. Nach jedem Ätzschnitt wurden topographische und nanomechanische Probeneigenschaften mit einem Rasterkraftmikroskop im *PeakForce QNM*-Modus vermessen. Die so aufgenommenen Volumendaten wurden schichtweise analysiert. Dabei wurden die in jedem Pixel der *PeakForce QNM*-Bilder enthaltenen Kraft-Abstands-Kurven ausgewertet, um quantitative, topographische und nanomechanische Oberflächen-Charakteristiken zu bestimmen. Welche Bereiche der Kraft-Abstands-Kurven dabei zur Bestimmung der verschiedenen Oberflächeneigenschaft benutzt wurden, ist exemplarisch an einer Annäherungskurve (eng. *trace curve*) und einer Wegfahrkurve (eng. *retrace curve*) in Abbildung 5.6 (a) gezeigt.

Oberflächeneigenschaften der unbehandelten ePP-Probe

Vor dem Abtragen der Oberfläche wurde zunächst die unbehandelte ePP-Probenoberfläche vermessen. In den auf diese Weise gewonnenen Topographiedaten (siehe Abbildung 5.6 (b)) lassen sich deutlich kristalline (helle) Strukturen erkennen, die von amorphem (dunklem) Material umgeben sind. Die kristallinen Bereiche zeigen sich dabei als Erhebungen von etwa 23 nm Höhe, verglichen mit den umgebenden amorphen Oberflächenbereichen. Alle weiteren in Abbildung 5.6 dargestellten Probeneigenschaften wurde simultan aus den oben erwähnten *PeakForce QNM*-Daten ermittelt. Die Oberflächenrauigkeit wurde aus den Topographiedaten eines $1\text{ }\mu\text{m}^2$ großen Oberflächenbereichs berechnet. Die *rms*-Rauigkeit betrug 4.0 nm. Abbildung 5.6 (c) zeigt ein Bild des Rückkopplungs-Regelkreis-Fehlers (engl. *feedback loop error*). Der Rückkopplungs-Regelkreis war in dieser Messung auf eine konstante Maximalkraft von 8 nN eingestellt. Auch in der lateralen Verteilung der Elastizitätswerte (Abbildung 5.6 (d)) lassen sich harte kristalline Strukturen (hell) und weiche amorphe Bereiche (dunkel) erkennen. Eine Auswertung dieser Verteilung ergab für die kristallinen Bereiche durchschnittliche Elastizitätswerte von (154 ± 10) MPa und (91 ± 2) MPa für die amorphen Oberflächenbereiche. Diese Werte stehen im Einklang mit den im Klassifizierungsalgorithmus eingestellten Grenzwerten. Eine Analyse der lateralen Adhäsionskraft-Verteilung (Abbildung 5.6 (e)) ergab auf der unbehandelten ePP-Oberfläche Adhäsionskräfte von durchschnittlich (9.6 ± 0.9) nN in den kristallinen Oberflächenbereichen und von (12.8 ± 0.4) nN in den amorphen Gebieten. Auch die in den amorphen Oberflächenbereichen dissipierende Energie war mit (2.3 ± 0.3) keV deutlich höher als in den kristallinen Bereichen (0.8 ± 0.2) keV, was sich durch die deutlich höheren Adhäsionskräfte und die größere Eindringtiefe erklären lässt (Abbildung 5.6 (f)).

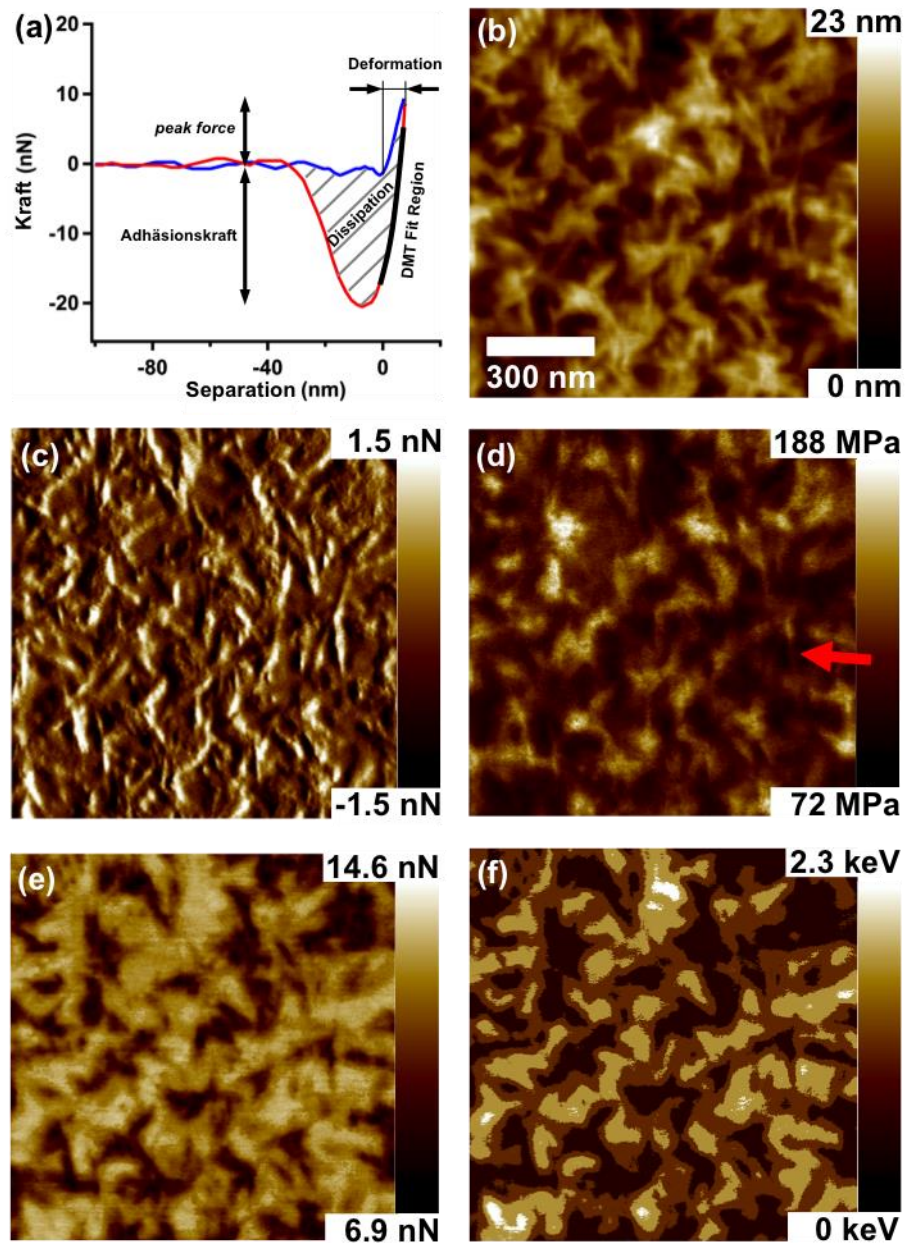


Abbildung 5.6: Im PeakForce QNM-Modus gemessene nanomechanische Oberflächeneigenschaften einer unbehandelten ePP-Oberfläche. (a) Annäherungs-Kurve (blau) und Wegfahr-Kurve (rot) einer einzelnen Kraft-Abstands-Messung. Die markierten Bereiche der Kurven in diesem Diagramm geben an, in welchen Regionen die jeweiligen nanomechanischen Probeneigenschaften ermittelt wurden. (b) Topographie-Aufnahme der Probenoberfläche: helle Bereiche entsprechen Erhebungen von bis zu 23 nm durch kristalline Strukturen, dunkle Bereiche stammen von amorphem Material zwischen den Kristallen. (c) Darstellung des Rückkopplungs-Regelkreis-Fehlers (engl. feedback loop error). Der Rückkopplungs-Regelkreis war in diesem Fall eingestellt, eine Maximalkraft von 8 nN zu halten. (d) Darstellung der lateralen Elastizitätsverteilung; kristalline Bereiche erscheinen hier wegen ihrer größeren Steifigkeit hell. (e) Abbildung der gemessenen Adhäsionskraft. Hier fällt auf, dass die amorphen Bereiche eine höhere Adhäsionskraft auf die Messspitze ausüben als die kristallinen Strukturen. (f) zeigt die laterale Verteilung der während der Messung in die Probe dissipierten Energie. (Reprinted (adapted) with permission from “Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene”, Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Die beobachtete Proben-Morphologie weist eine starke Ähnlichkeit mit der von Schönherr et al.¹²⁹ beschriebenen blumenartigen Struktur auf. Allerdings zeigte sich bei den in dieser Arbeit untersuchten Proben eine höhere Flächendichte des kristallinen Anteils als

in den Beobachtungen von Schönherr et al.¹²⁹, was durch den höheren Pentaden-Anteil [mmmm] von 36 % (m = meso-Konformation) erklärt werden kann. Außerdem wurden die Proben etwa eine Woche nach der Herstellung vermessen, was bedeutet, dass zu diesem Zeitpunkt der überwiegende Teil der isotaktischen Polymerketten in seinen kristallinen Zustand übergegangen ist.

Die oben beschriebene Rauigkeit von 4 nm ist in erster Linie eine Folge des unterschiedlichen Deformations- bzw. Indentationsverhaltens der kristallinen und der amorphen ePP-Phase. Der durchschnittliche Deformationsunterschied zwischen den beiden Phasen liegt bei etwa 6 nm. Dieser Unterschied legt nahe, dass die Probenoberfläche in Wirklichkeit deutlich flacher ist als die Topographie vermuten lässt und, dass die ermittelte Rauigkeit größtenteils durch die unterschiedlichen Eindringtiefen der Messspitze verursacht wurde. Die mittleren Youngschen Module der amorphen Oberflächenbereiche liegen in der gleichen Größenordnung wie die von Gracias et al.¹³⁰ mit einer kolloidalen Messspitze (Radius = 1 μm) ermittelten Werte. Eine Ursache für den überraschend kleinen mittleren Elastizitätsmodul der kristallinen Bereiche kann die von Dietz et al.¹³¹ und Sakai et al.¹³² beschriebene dünne Schicht aus amorphem Material sein, die sich auf der Oberfläche von semikristallinen ePP-Proben ausbilden kann.

In den in Abbildung 5.6 (b)-(f) gezeigten Aufnahmen wird die hohe Auflösung der einzelnen Oberflächeneigenschaften deutlich. Die feinsten Strukturen in der Elastizitätsaufnahme (Abbildung 5.6 (d)) besitzen Größen von nur etwa 15 nm. Eine dieser Strukturen ist in der Elastizitätsaufnahme mit einem roten Pfeil gekennzeichnet. Im Vergleich dazu liegen die erwarteten Strukturgrößen der kristallinen Strukturen für Lamellen der α -Variante bei 14 nm und für Lamellen der γ -Variante bei 7 nm.¹³³ Die Diskrepanz zwischen der von Boger et al.¹³³ beschriebenen Strukturgröße und der im Rahmen dieser Arbeit beobachteten Größe kann durch die in Abschnitt 2.6 beschriebene geometrische Faltung der Oberflächentopographie mit der Messspitzengeometrie erklärt werden. Die vergleichsweise hohen Werte der Adhäsion und der dissipierten Energie in den amorphen Oberflächenbereichen sind ein Beleg für die von Nielsen¹³⁴ beschriebenen viskosen Eigenschaften der amorphen ePP-Phase. Die scheinbar gute Sichtbarkeit von kristallinen ePP-Strukturen vor dem ersten Ätzschritt in der Topographie-Aufnahme in Abbildung 5.6 (b) lässt sich über den vom Rückkopplungs-Regelkreis eingestellten *peak force set-point* erklären. Das durch die Anpassung dieses Parameters verursachte tiefere Eindringen der Messspitze in die amorphe Probenoberfläche ermöglicht die Abbildung kristalliner Strukturen, die sich unterhalb der dünnen amorphen Oberflächenschicht befinden.

Strukturelle Analyse in verschiedenen Tiefen

Um die nanomechanischen Eigenschaften der semikristallinen ePP-Probe unterhalb der Oberfläche zu vermessen und strukturelle Zusammenhänge im inneren des Materials auflösen zu können, wurden schichtweise dünne ePP-Schichten durch ein chemisches Nassätzverfahren entfernt. Nach jedem Abtragen wurden durch eine *PeakForce QNM*-Aufnahme die Oberflächentopographie (Abbildung 5.7 (a)), die Elastizität (Abbildung 5.7 (b)), die Adhäsion (Abbildung 5.7 (c)), und die dissipierte Energie (Abbildung 5.7 (d)) ermittelt.

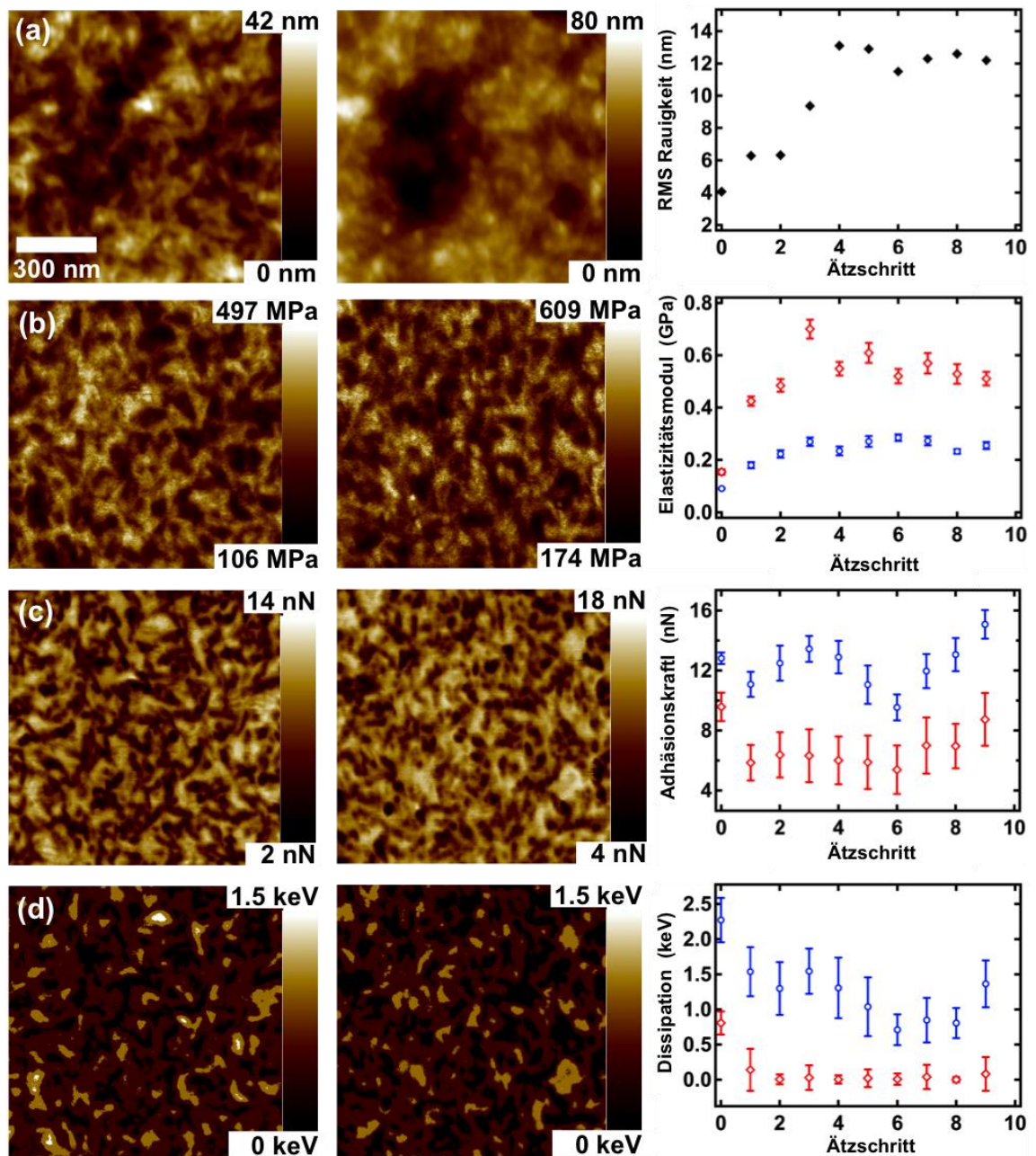


Abbildung 5.7: Übersicht über die nanomechanischen Eigenschaften einer semikristallinen ePP-Probe für verschiedene Tiefen in der Probe, aufgenommen an der gleichen Messposition. In der linken Spalte sind die lateralen Verteilungen der einzelnen nanomechanischen Materialeigenschaften nach dem ersten Ätzschritt, also in 11 nm Tiefe, gezeigt. Die mittlere Spalte zeigt Aufnahmen vom selben Probenbereich nach dem 9. Ätzschritt, d.h. in 99 nm Tiefe. Diagramme mit Tiefenprofilen, welche den Verlauf der jeweiligen Größe als Funktion des Ätzschritts bzw. der Tiefe zeigen, sind in der rechten Spalte dargestellt. Werte von kristallinen Oberflächenbereichen sind dabei mit roten Rauten dargestellt und Werte von amorphen Bereichen mit blauen Kreisen. (Reprinted (adapted) with permission from "Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene", Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Dabei zeigt Abbildung 5.7 die lateralen Verteilungen dieser Oberflächeneigenschaften nach dem ersten Ätzschritt in der ersten Spalte. Zum Vergleich sind die Materialeigenschaften desselben Probenbereichs nach dem neunten Ätzschritt in der mittleren Spalte abgebildet. Bei einer Ätzrate von etwa 11 nm pro Ätzschritt entsprechen die in der ersten Spalte gezeigten Ergebnisse den Probeneigenschaften in 11 nm Tiefe und die in der mitt-

leren Spalte gezeigten Werte entsprechen den Oberflächeneigenschaften in etwa 99 nm Tiefe. Die gemessene Probestopographie und der Elastizitätsmodul sind für den Ausgangszustand und die folgenden neun Ätzschritte in Abbildung 5.8 und Abbildung 5.9 dargestellt. Sowohl die Topographiedaten als auch die Elastizitätsdaten verdeutlichen die strukturelle Veränderung des semikristallinen Materials in verschiedene Tiefen.

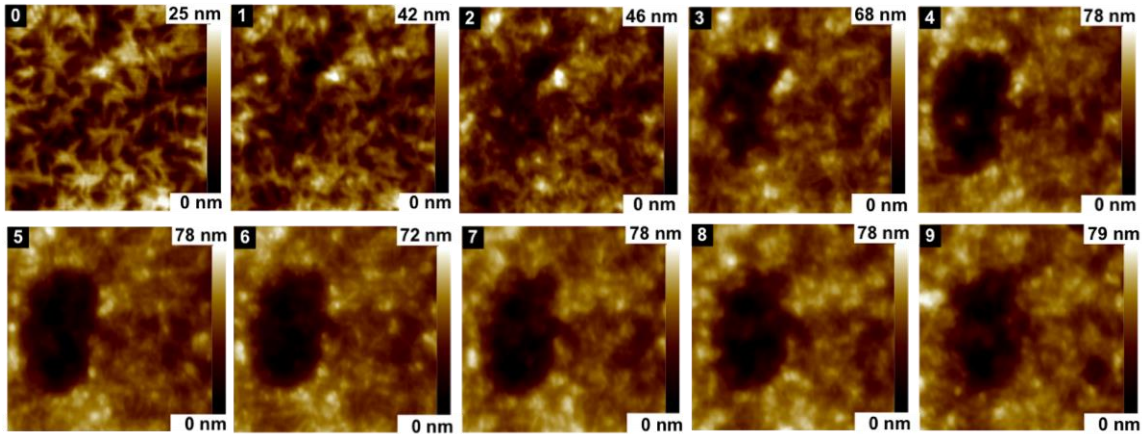


Abbildung 5.8: Probestopographie der unbehandelten Probe (0), sowie nach jedem der neun Ätzschritte (1) – (9). Die einzelnen Bilder zeigen einen $1.21 \mu\text{m}^2$ großen Bereich der Oberfläche. (Reprinted (adapted) with permission from “Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene”, Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Während die topographischen Unterschiede der kristallinen und amorphen ePP-Phase im Höhenbild zu verschwinden scheinen, erkennt man an der lateralen Verteilung des Elastizitätsmoduls, dass sich das dicht verzweigte Erscheinungsbild der kristallinen Bereiche in den verschiedenen Tiefen nach dem ersten Ätzschritt nicht mehr wesentlich ändert.

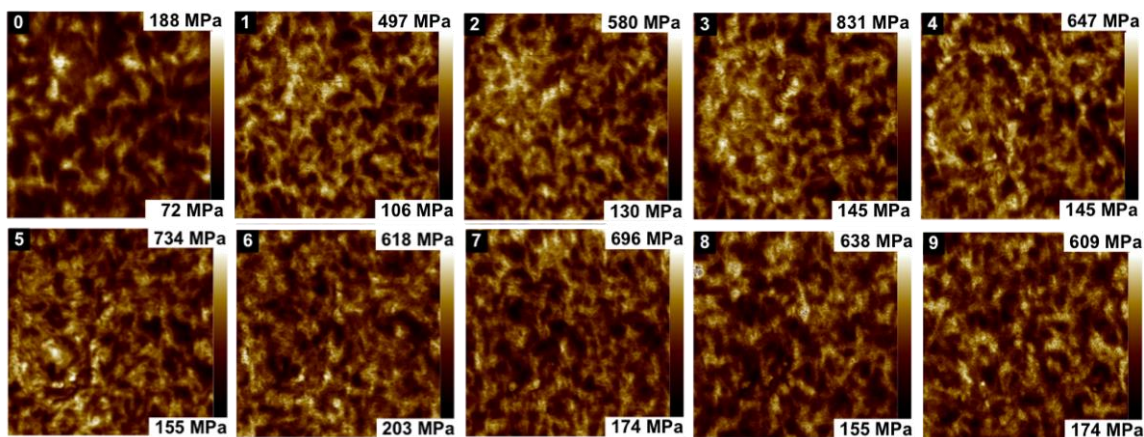


Abbildung 5.9: Youngscher Modul der unbehandelten Probenoberfläche (0), sowie nach jedem der folgenden 9 Ätzschritte (1) – (9). Die einzelnen Bilder zeigen einen $1.21 \mu\text{m}^2$ großen Bereich der Oberfläche. (Reprinted (adapted) with permission from “Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene”, Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Auffällig ist jedoch der strukturelle Unterschied der Elastizitätsverteilung vor und nach dem ersten Ätzschritt (siehe Abbildung 5.9 (0) und (1)). Die scheinbar dichtere Verteilung von kristallinem Material sowie die deutlich höheren Elastizitätsmodule nach dem

ersten Ätzzvorgang sind ein weiteres Indiz für die zuvor beschriebene dünne Schicht aus amorphem Material, welche sich auf unbehandelten ePP-Oberflächen befinden kann.

Für die strukturelle Analyse des semikristallinen Materials wurden die lateralen Verteilungen der verschiedenen Materialeigenschaften mit Hilfe des in Abschnitt 4.4 beschriebenen Klassifizierungs-Algorithmus, auf der Basis der Elastizität, in kristalline Bereiche, amorphe Bereiche und sog. Mischbereiche aufgeteilt. Dies ermöglichte eine separate Bestimmung der verschiedenen nanomechanischen Eigenschaften für die kristallinen und die amorphen Bestandteile der Probe. Tiefenprofile dieser Materialeigenschaften sind separat für beide Materialklassen in den Diagrammen der rechten Spalte von Abbildung 5.7 dargestellt. Werte von kristallinen Oberflächenbereichen sind dabei mit roten Rauten dargestellt und Werte von amorphen Bereichen mit blauen Kreisen. In dieser Darstellung ist zu erkennen, dass die *rms*-Rauigkeit während der ersten vier Ätzschrte zunimmt und danach bei einem Wert von etwa 12 nm ein Plateau bildet. Vor dem ersten Ätzschrte wurde auf den amorphen Oberflächenbereichen der Probe ein Elastizitätsmodul von (91 ± 2) MPa gemessen, und auf den kristallinen Bereichen ergab die Messung Werte von etwa (154 ± 10) MPa (siehe Abbildung 5.7 (b)). Nach dem Abtragen der ersten zwei Schichten, also in einer Tiefe von etwa 22 nm, wurden in den kristallinen Bereichen Elastizitätsmoduli von etwa 548 MPa gemessen, während sich der Elastizitätsmodulus der amorphen Bereiche nur leicht auf ein Plateau bei einem Wert von etwa 256 MPa erhöhte. Die für die Adhäsionskräfte beobachteten Werte beider ePP-Phasen zeigen keine deutliche Änderung während der neun Ätzschrte. Die mittlere Adhäsionskraft auf amorphem Material betrug dabei $F_{adh,am} = 12.3$ nN, und auf den kristallinen Strukturen wurde eine durchschnittliche Adhäsionskraft von $F_{adh,cr} = 6.5$ nN gemessen. Die Streuung der Adhäsionswerte ist dabei so groß, dass sich die daraus resultierenden Standardabweichungen teilweise überlappen und somit keine klare Unterscheidung der Materialien anhand der wirkenden Adhäsionskraft möglich ist (siehe Abbildung 5.7 (c)). Für die im Probenmaterial dissipierte Energie wurde in den amorphen Bereichen ein deutlicher Abfall mit zunehmender Tiefe beobachtet, während die in kristallinen Oberflächenbereichen dissipierte Energie nach einem anfänglichen Rückgang konstant auf einem Wert von etwa 0.1 keV blieb (siehe Abbildung 5.7 (d)).

Der Anstieg der Oberflächenrauigkeit lässt sich über die unterschiedlichen Ätzzraten von kristallinem und amorphem ePP erklären.¹³⁵ Diese bewirken, dass die amorphe Materialphase schneller abgetragen wird als die kristalline Phase. Im weiteren Verlauf der Messreihe gleicht sich der Effekt dann durch den erhöhten Anteil von kristallinem Material im beobachteten Probenbereich aus. Die vor dem ersten Ätzschrte nahezu identischen Werte der Elastizität und der Adhäsionskraft in den kristallinen und amorphen Regionen untermauern die in früheren Studien aufgestellte These über die Existenz einer dünnen Schicht auf der Probenoberfläche, die überwiegend aus amorphem ePP besteht.^{131, 132} Diese Schicht scheint nach etwa zwei Ätzschrten vollständig entfernt zu sein, da die Werte des Elastizitätsmoduls der kristallinen Bereiche mit den folgenden Ätzzvorgängen nicht weiter ansteigen. Der Elastizitätsmodul der amorphen ePP-Bereiche stimmt ab dieser Tiefe auch gut mit den von Gracias et al.¹³⁰ ermittelten Werten überein. Im Gegensatz dazu ist der ermittelte Steifigkeitswert der kristallinen Bereiche unerwartet niedrig. Die wahrscheinlichste Ursache für die niedrigen Elastizitätsmodule in den kristallinen Berei-

chen ist die Einbettung der feinen kristallinen Strukturen in einer amorphen Umgebung. Dies kann zu einer Verringerung der beobachteten effektiven Steifigkeit führen.

Ein klarer Indikator für die Existenz einer amorphen Grenzschicht ist die auf der unbehandelten Probe erhöhte Energiedissipation in kristallinen Bereichen (siehe Abbildung 5.7 (d)). Bei genauerer Betrachtung der Ergebnisse fällt außerdem eine ungewöhnlich hohe Adhäsionskraft zwischen der SiO₂-Messspitze und den kristallinen ePP-Bereichen auf. Diese verstärkte Adhäsion könnte durch an der Messspitze anhaftende Polymerketten verursacht werden, welche die Adhäsionskraft auf kristallinem Material verstärken, aber keinen nennenswerten Einfluss auf die Probenelastizität haben.

Strukturelle Inhomogenitäten

Beim schichtweisen Abtragen der Probenoberfläche fielen Bereiche der Probe auf, welche mit einer deutlich höheren Rate abgetragen wurden als der Rest der Probenoberfläche. Diese lokalen Inhomogenitäten werden im weiteren Verlauf dieser Arbeit als Defekt-Bereiche bzw. Defekt-Regionen bezeichnet. Aus ihnen bildeten sich bei wiederholtem Ätzen, gleichmäßig über die Probenoberfläche verteilt, runde Vertiefungen aus. Für eine weitere Untersuchung dieses Phänomens wurde ein solcher Probenbereich in einer ausführlicheren Analyse genauer betrachtet. Hierfür wurde der Zusammenhang zwischen der relativen Ätzrate Δj und der relativen Kristallinität untersucht. Die relative Ätzrate wurde dabei wie folgt definiert:

$$\Delta j = j_d - j_s = \frac{h_{ref} - h_d}{\Delta t} - \frac{h_{ref} - h_s}{\Delta t} = \frac{h_s - h_d}{\Delta t}. \quad (5.1)$$

In dieser Gleichung beschreiben j_d die Ätzrate im Defekt-Bereich und j_s die durchschnittliche Ätzrate auf der Probenoberfläche. Beide Ätzraten wurden aus der Höhendifferenz der jeweiligen durchschnittlichen Oberflächenhöhe (h_d bzw. h_s) ermittelt. Dabei ist Δj unabhängig von der Referenzhöhe h_{ref} der unbehandelten und ungeätzten Probe. Die Zeit, für die die Probe in die Ätzlösung gehalten wurde, geht mit Δt als Divisor in die Gleichung ein. Die relative Kristallinität wurde bestimmt, indem die Anzahl der als kristallin klassifizierten Pixel in einem bestimmten Bereich durch die Gesamtzahl der Pixel in diesem Bereich geteilt wurde. Der in diesem Zusammenhang benutzte Defektbereich ist in Abbildung 5.10 durch die gestrichelten weißen Rechtecke in den Elastizitätsbildern gekennzeichnet. Im Diagramm dieser Abbildung ist das oben beschriebene Verhältnis von relativer Ätzrate zu relativer Kristallinität anhand von vier aufeinanderfolgenden Ätzschritten auf einem Oberflächenabschnitt mit einem Defekt gezeigt (rote Rauten in Abbildung 5.10). Der jeweilige Ätzschritt ist als rote Zahl neben den Rauten angegeben.

Nach dem ersten Ätzschritt wurde so eine relative Kristallinität von 6.7 % und im darauf folgenden Ätzschritt eine Ätzrate von 2 nm/min relativ zur umgebenden Oberfläche ermittelt. Nach dem zweiten Ätzschritt betrug die Kristallinität etwa 11.1 %, was zu einer deutlich erhöhten relativen Ätzrate von etwa 15 nm/min führte, usw. Die im Defektbereich erhöhte relative Kristallinität lässt sich auch in den in Abbildung 5.10 gezeigten Elastizitätsbildern erkennen. In den in Abbildung 5.8 gezeigten Topographie-Aufnahmen einer Messsequenz mit neun Ätzschritten und den in Abbildung 5.9 gezeigten entspre-

chenden Elastizitätsaufnahmen wird deutlich, dass der lokale Anstieg der Kristallinität zur Ausbildung einer Vertiefung führt. Außerdem erlauben es diese Messreihen, die Tiefenausdehnung des Defekts in der ePP-Probe mit etwa 30 - 40 nm abzuschätzen.

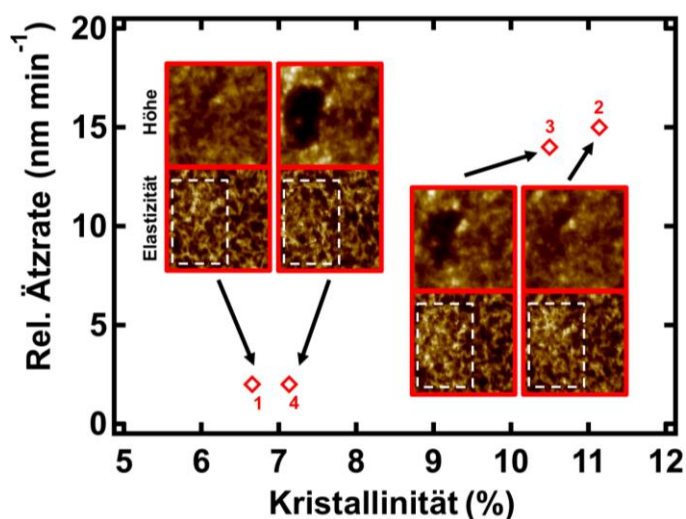


Abbildung 5.10: Abhängigkeit der relativen Ättrate in Defektregionen (rote Rauten) von der relativen Kristallinität. Die zweidimensionalen Messbilder zeigen die laterale Verteilung der Oberflächentopographie und des Elastizitätsmoduls für die Ätzschritte 1 – 4. Die roten Nummern entsprechen der Nummer des Ätzschritts. Dabei führt eine hohe Kristallinität zu einer hohen Ättrate, welche wiederum zur Ausbildung von Vertiefungen in der Oberfläche führen kann. (Reprinted (adapted) with permission from “Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene”, Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Es ist anzunehmen, dass die Polydispersität der ePP-Lösung sowie die Art der Probenpräparation die Entstehung dieser Art der Strukturdefekte begünstigt hat. So kann es bei polydispersen Polymerlösungen zu einer Phasenseparation und somit zu einer lokalen Entmischung von langen und kurzen Polymerketten kommen.¹³⁶ Dieser Effekt konnte bei verschiedenen Polymeren beobachtet werden.^{137, 138} Wie in einer Studie von Magill¹³⁹ beschrieben wird, kristallisieren kurze Polymerketten bei Zimmertemperatur deutlich schneller als lange Ketten. Im Gegensatz zu Proben-Präparationsverfahren, bei denen das Polymer in einer erwärmten Schmelze kristallisiert, beschleunigt das in dieser Arbeit verwendete Präparationsverfahren die Kristallisation durch die schnelle Verdunstung des Lösungsmittels. Mit dieser beschleunigten Kristallisation steigt außerdem die Wahrscheinlichkeit, dass ataktische Polymerstränge in isotaktische Kristallstrukturen eingeschlossen werden, was zu Spannungen in der kristallinen ePP-Phase führen kann. Dies kann zu einer Vielzahl von verschiedenen Strukturfehlern in der kristallinen Phase führen.^{102, 140} Strukturelle Defekte dieser Art können demnach die Ursache für die höhere Ättrate der kristallinen Phase sein, da Störungen durch ataktische Polymerstränge im isotaktischen Kristall einen Angriffspunkt für Lösungsmittel darstellen. Dies erklärt die erhöhte Ättrate an den oben beschriebenen Defekten, die beim wiederholten Ätzen der Oberfläche zu lochartigen Vertiefungen führt (Abbildung 5.8).

Auswertung der Deformationswerte

Eine weitere nanomechanische Materialeigenschaft, die, wie in Abschnitt 2.4.3 beschrieben, aus den Kraft-Abstands-Kurven von *PeakForce QNM*-Messungen ermittelt werden

kann, ist die Oberflächendeformation. Diese wurde im Rahmen der tiefen aufgelösten Charakterisierung ebenfalls für alle Ätzschritte ausgewertet. Exemplarisch zeigt Abbildung 5.11 (a) die Oberflächendeformation nach dem ersten Ätzschritt, und in Abbildung 5.11 (b) ist die Verteilung der Deformation nach dem neunten Ätzschritt dargestellt. Im Durchschnitt wurden auf den amorphen Polymerbereichen Deformationswerte von etwa 7.0 nm und auf den kristallinen Regionen im Mittel Deformationswerte von 1.3 nm gemessen (vergleiche Abbildung 5.11). Das Tiefenprofil in Abbildung 5.11 (c) zeigt den Verlauf der Deformation für alle 9 Ätzschritte.

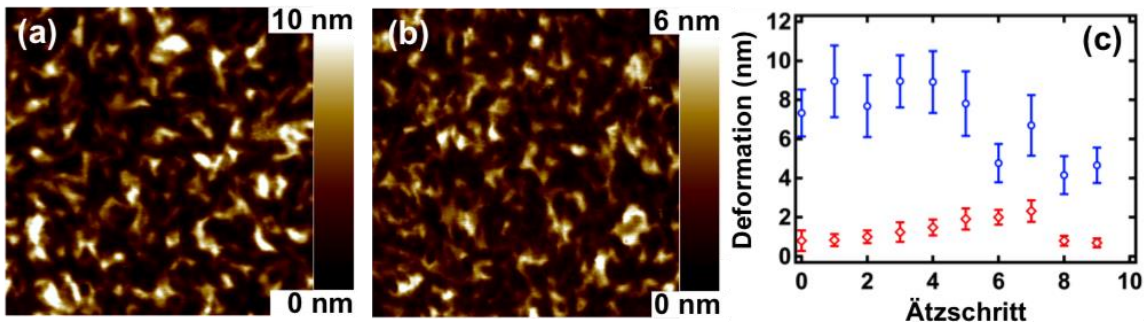


Abbildung 5.11: Aus den *PeakForce QNM*-Messungen extrahierte Oberflächendeformation. (a) Verteilung der Deformation nach dem 1. Ätzschritt, also nach dem Abtragen von etwa 11 nm Oberflächenmaterial. (b) Deformationsbild in etwa 99 nm Tiefe, an derselben Stelle wie (a) aufgenommen nach dem 9. Ätzschritt. (c) Tiefenprofil der Deformationswerte für alle neun Ätzschritte, gemessen auf kristallinen Bereichen (rote Rauten) und auf amorphen Bereichen (blaue Kreise).

Die Deformation der Probe ist wegen dem niedrigen Elastizitätsmodul der amorphen ePP-Bereiche dort wesentlich größer als bei den deutlich steiferen kristallinen Strukturen. Überraschenderweise sind deutliche Unterschiede zwischen den zwei Bereichen auch in den Deformationswerten der unbehandelten Probe zu beobachten, was auf den ersten Blick gegen die Existenz einer dünnen amorphen Oberflächenschicht spricht. Auf den zweiten Blick kann man zu dem Schluss gelangen, dass die scharfe Messspitze die amorphe Grenzschicht nahezu ungehindert durchdringen kann, so dass die gemessene Deformation zum größten Teil die Informationen aus tieferen Schichten enthält.

Bei der Auswertung des Zusammenhangs der Deformation mit den übrigen nanomechanischen Eigenschaften, wie Adhäsion und Elastizitätsmodul, und den verwendeten Messparametern, wie dem Spitzenradius und der Maximalkraft, wurde ein Widerspruch in Gleichung (2.64) gefunden. Zur genaueren Untersuchung dieser Diskrepanz wurden einzelne Kraft-Abstands-Kurven aus den *PeakForce QNM*-Datensätzen vom 3. und vom 6. Ätzschritt exportiert und manuell, also unabhängig von der Herstellersoftware NANOSCOPE, ausgewertet. Bei dieser Auswertung wurden die in Abbildung 5.12 gezeigten Unstimmigkeiten zwischen den automatisch durch NANOSCOPE ermittelten Werten und den Kraft-Abstands-Kurven identifiziert.

In der manuellen Auswertung der Rohdaten wurde auf den kristallinen Oberflächenbereichen ein durchschnittlicher Deformationswert von $\delta_{\text{manual,cr}} = 2.4 \text{ nm}$ gemessen, und auf den amorphen Oberflächenbereichen eine durchschnittliche Deformation von $\delta_{\text{manual,am}} = 6.4 \text{ nm}$ ermittelt. Wie in Abbildung 5.12 dargestellt ist, weichen die mit der Hersteller-

software berechneten Daten mit den Werten von $\delta_{\text{software,cr}} = 1.2 \text{ nm}$ bzw. $\delta_{\text{software,am}} = 8.9 \text{ nm}$ von diesen Werten deutlich ab.

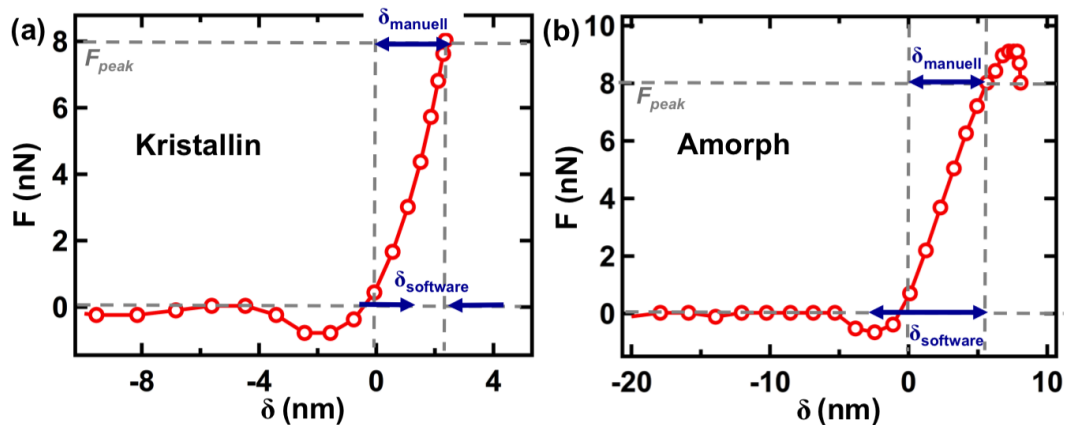


Abbildung 5.12: Ermittlung der Oberflächendeformation am Beispiel zweier Annäherungs-Kurven, die nach dem 3. Ätzschritt aufgenommen wurden. (a) Kraft-Abstands-Kurve, die auf einem kristallinen Oberflächenbereich aufgenommen wurde. (b) Auf amorpher Oberfläche aufgenommene Kraft-Abstands-Kurve. Die blauen Pfeile ermöglichen in beiden Darstellungen einen Vergleich der manuell bestimmten Werte mit den gemittelten Deformationswerten, die mit der NANOSCOPE-Software ermittelt wurden.

Die Mittelwerte der Ergebnisse der manuellen Auswertung entsprechen dem in Gleichung (2.64) beschriebenen Zusammenhang und stehen somit im Einklang mit den beobachteten Werten für den Elastizitätsmodul und die Adhäsionskraft. Zum Vergleich der zwei Auswertungen sind diese Ergebnisse zusammen mit den durch die NANOSCOPE-Software ermittelten Werten für die Ätzschritte 3 und 6, getrennt nach kristallinen und amorphen Bereichen, in Tabelle 5.1 bzw. Tabelle 5.2 aufgelistet.

Kurve-Nr.	1	2	3	4	5	Mittelwert	Mittelwert PeakForce QNM
$F_{adh,cr} \text{ (nN)}$	6.1	5.8	6.7	6.2	6.1	6.2	6.3 ± 1.8
$\delta_{cr} \text{ (nm)}$	3.1	2.4	3.1	2.4	2.4	2.7	1.2 ± 0.5
$E_{cr} \text{ (MPa)}$	534	531	611	599	533	566	700 ± 36
$F_{adh,am} \text{ (nN)}$	11.0	12.5	12.4	12.0	11.2	11.8	13.4 ± 0.9
$\delta_{am} \text{ (nm)}$	5.5	6.7	8.4	7.9	6.7	7.0	8.9 ± 1.3
$E_{am} \text{ (MPa)}$	207	240	229	237	209	224	270 ± 16

Tabelle 5.1: Vergleich der manuellen Auswertung einzelner Kraft-Abstands-Kurven aus Ätzschritt 3 mit den durch die Herstellersoftware NANOSCOPE ermittelten Werten für die Adhäsionskraft, die Oberflächendeformation und den Elastizitätsmodul für amorphe und kristalline Bereiche.

Der in Abbildung 5.12 gezeigte Vergleich legt den Verdacht nahe, dass die Vermessung der Oberflächendeformation bzw. die Bestimmung des Kontaktpunktes zwischen Messspitze und Oberfläche in der Auswertesoftware des Herstellers für die hier vermessenen

Proben fehlerhaft war. Die Werte in Tabelle 5.1 und Tabelle 5.2 untermauern diesen Verdacht. Während die Mittelwerte der manuellen Auswertung der Rohdaten für die Adhäsionskraft und den Elastizitätsmodul mit den gemittelten Ergebnissen der *PeakForce QNM*-Auswertung aus der NANOSCOPE-Software gut übereinstimmen, ist in den Deformationswerten eine signifikante Abweichung zu beobachten.

Als eine mögliche Ursache für diesen systematischen Messfehler der Deformationswerte kann eine fehlerhafte Bestimmung des Kontaktpunktes zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche genannt werden. Dieser Fehler könnte durch die geringe Anzahl von Einzelmessungen verursacht worden sein, aus denen jede einzelne Kraft-Abstands-Kurve besteht. Ein weiterer Grund könnte sein, dass sich die amorphen Bereiche durch die starken Adhäsionskräfte kurzzeitig plastisch verformen und somit angehoben werden, was zu einer Verschiebung des Kontaktpunktes in der darauffolgenden Kraft-Abstands-Kurve führen könnte. Eine weitere Ursache für die systematischen Abweichungen der Oberflächendeformation kann die Wahl des Trigger-Punktes sein. Dieser wird durch die „Auto-Konfig“-Funktion vor der Datenaufnahme festgelegt. Da diese Festlegung bei Proben mit heterogener Elastizitätsverteilung nicht für alle Probenbereiche optimal sein kann, kann es, wie in Abbildung 5.12 gezeigt, zu Überschwängern der Kraft-Abstands-Kurven kommen.

Kurve-Nr.	1	2	3	4	5	Mittelwert	Mittelwert <i>PeakForce QNM</i>
$F_{adh,cr}$ (nN)	7.6	8.0	7.6	5.9	7.9	7.4	5.4 ± 1.6
δ_{cr} (nm)	3.7	2.9	3.7	2.9	3.7	3.4	2.0 ± 0.4
E_{cr} (MPa)	689	750	689	648	716	698	521 ± 27
$F_{adh,am}$ (nN)	11.0	10.0	10.0	11.3	10.6	10.6	9.5 ± 0.9
δ_{am} (nm)	6.1	6.3	6.1	6.1	6.1	6.2	4.8 ± 1.0
E_{am} (MPa)	211	202	200	227	222	212	282 ± 13

Tabelle 5.2: Vergleich der manuellen Auswertung einzelner Kraft-Abstands-Kurven aus **Ätzschritt 6** mit den durch die Herstellersoftware NANOSCOPE ermittelten Werten für die Adhäsionskraft, die Oberflächendeformation und den Elastizitätsmodul für amorphe und kristalline Bereiche.

Einfluss der Messspitze auf die Oberflächenstruktur bei verschiedenen Kräften

Zur Verifizierung der während den *PeakForce QNM*-Messungen aufgenommenen Daten ist es wichtig, den Einfluss der Messspitze auf die Probenoberfläche bei der verwendeten Maximalkraft zu untersuchen. Durch eine Analyse der Robustheit der Probenoberfläche kann so geprüft werden, ob es während der Messung ausschließlich zu elastischen Verformungen der Oberfläche kam, oder ob eine zu große Maximalkraft zu einer plastischen Oberflächenveränderung geführt haben könnte.

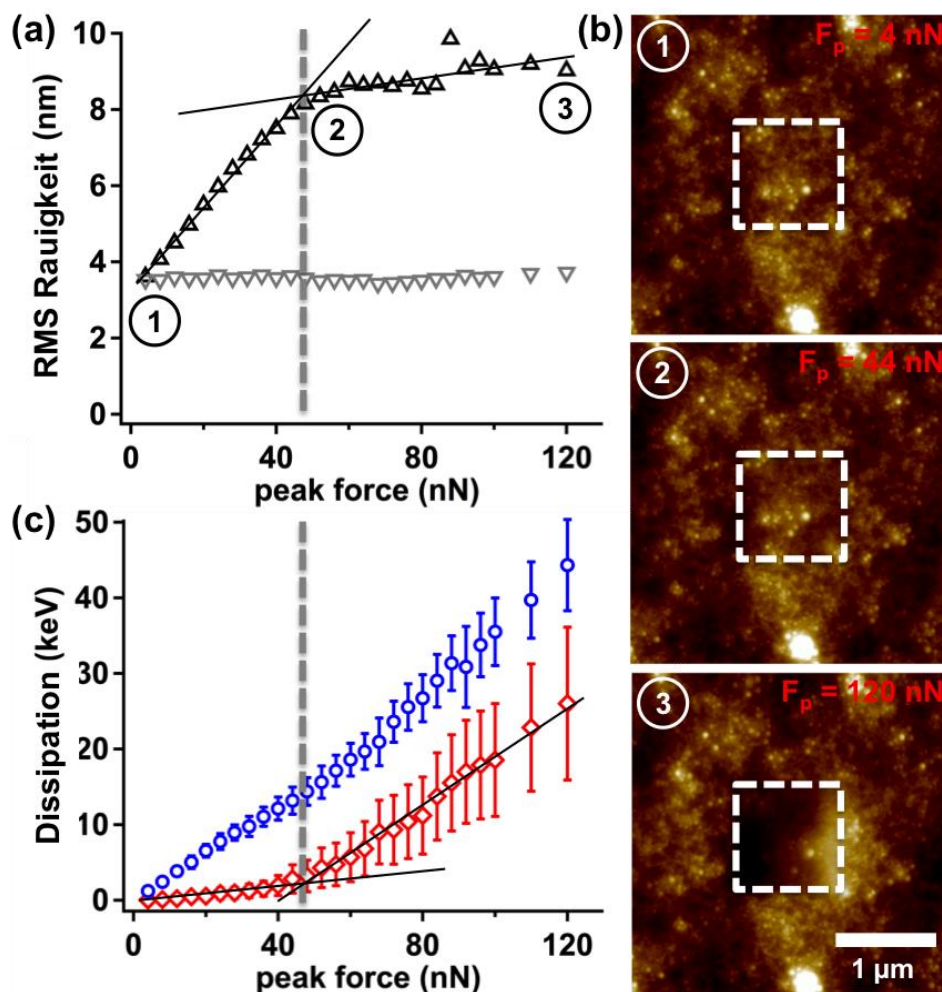


Abbildung 5.13: Messungen zur Ermittlung des Einflusses der Messspitze auf die ePP-Probenoberfläche: (a) Abhängigkeit der rms-Rauigkeit von der durch die Messspitze ausgeübten Maximalkraft (peak force). Die schwarzen (nach oben deutenden) Dreiecke zeigen die rms-Rauigkeit, die im $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ großen weiß markierten Testbereich in (b) gemessen wurde. Die grauen (nach unten deutenden) Dreiecke geben die rms-Rauigkeit einer Referenzmessung in einem $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ großen Oberflächenbereich am linken oberen Bildrand in (b) an. Die plastische Verformung der Oberfläche bei zunehmender peak force ist in den Topographieaufnahmen in (b) für 4 nN, 44 nN und 120 nN klar erkennbar. Dabei wurde die Reihe ansteigender Maximalkräfte nur innerhalb des weißen Rechtecks gemessen. Die Messungen zur quantitativen Analyse der Auswirkungen wurden mit einer Maximalkraft von nur 3 nN gemessen. In (b) (3) ist deutlich zu erkennen, dass durch die Messung Oberflächenmaterial von links nach rechts bewegt wurde. (c) zeigt den Betrag der Energie, der während der Messung in die kristallinen Regionen (rote Rauten) und in die amorphen Bereiche dissipierte. Schnittpunkte der Geraden-Fits in (a) und (c) zeigen den Übergang von elastischer zur plastischen Verformung bei Kräften > 44 nN. (Reprinted (adapted) with permission from "Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene", Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Für diese Untersuchung wurde in einem $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ großen Bereich auf einer ePP-Oberfläche eine Reihe von PeakForce QNM-Messungen mit von $F_p = 4$ nN bis $F_p = 120$ nN ansteigender Maximalkraft aufgenommen. Dieser Testbereich ist in den Topographieaufnahmen in Abbildung 5.13(b) durch ein weißes Quadrat gekennzeichnet. Nach jeder dieser Aufnahmen wurde außerdem noch eine charakterisierende Messung mit 3 nN Maximalkraft von der Oberfläche und ihrer Umgebung aufgenommen, um die Oberflächenveränderung durch die verschiedenen Belastungen quantitativ zu erfassen. Zur Entfernung der zu Beginn dieses Kapitels beschriebenen amorphen Grenzschicht auf der

unbehandelten ePP-Probenoberfläche wurde diese vor Beginn der Messung zweimal geätzt. In Abbildung 5.13 (a) ist der Verlauf der *rms*-Rauigkeit innerhalb des in (b) mit weiß markierten Bereiches für ansteigende Maximalkräfte F_p aufgetragen (schwarze nach oben deutende Dreiecke). Zum Vergleich zeigen die grauen (nach unten deutenden) Dreiecke die *rms*-Rauigkeit aus einem gleichgroßen Referenzbereich im linken oberen Bildbereich. Im *rms*-Diagramm erkennt man zwei Bereiche. Für Kräfte unterhalb von $F_p \approx 44$ nN steigt die Rauigkeit steil linear an. Oberhalb dieser Kraft verringert sich die Steigung deutlich. Die topographische Veränderung der Probenoberfläche ist am Beispiel von drei Topographiaufnahmen bei $F_p = 4$ nN, $F_p = 44$ nN und $F_p = 120$ nN in Abbildung 5.13 (b) dargestellt. In den Vergleichsmessungen mit 3 nN im Referenzbereich der Oberfläche blieb die *rms*-Rauigkeit wie erwartet konstant.

Abbildung 5.13 (c) zeigt die während der Belastungsmessung von der Messspitze in die kristallinen und amorphen Oberflächenbereiche der Probe dissipierte Energie. Hier fällt auf, dass für kleine Kräfte $F_p < 44$ nN der Anstieg der dissipierten Energie auf den kristallinen Bereichen nur klein ist (rote Rauten in Abbildung 5.13 (c)). Oberhalb dieser Kraft ist ein deutlich steilerer linearer Anstieg zu beobachten. Auf den amorphen Bereichen steigt der Betrag der dissipierten Energie (blaue Kreise in Abbildung 5.13 (c)) über den gesamten Kräftebereich linear an. Die Steigung entspricht dabei in etwa der Steigung der in den kristallinen Bereichen dissipierten Energie für Kräfte $F_p > 44$ nN.

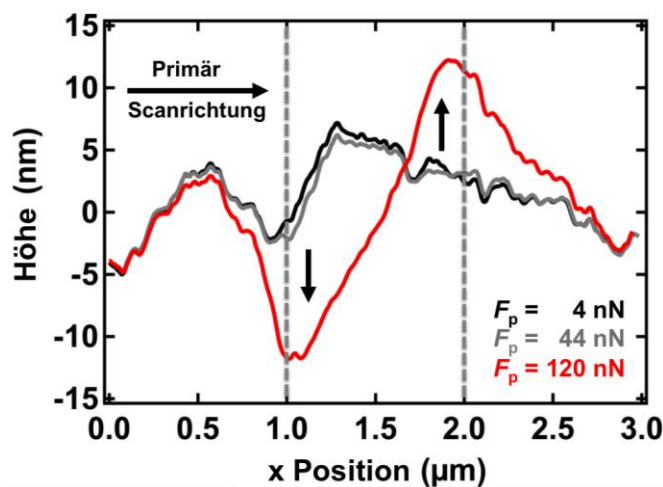


Abbildung 5.14: Gemittelte Oberflächenprofile wurden aus einem $3 \times 1 \mu\text{m}^2$ großen Bereich der Topographiaufnahmen in Abbildung 5.13(b) extrahiert. Die Profile zeigen die plastische Verformung der ePP Probenoberfläche nach PeakForce QNM-Messungen mit Maximalkräften von $F_p = 4$ nN (schwarze Linie), $F_p = 44$ nN und $F_p = 120$ nN. Die primäre Scan-Richtung war dabei von links nach rechts gerichtet. Für $F_p = 44$ nN sind nur leichte plastische Effekte zu beobachten (graue Kurve), aber für $F_p = 120$ nN kann eine starke plastische Veränderung beobachtet werden (rote Kurve). (Reprinted (adapted) with permission from "Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene", Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Zur Veranschaulichung der plastischen Verformung der Probenoberfläche zeigt Abbildung 5.14 drei Oberflächenprofile eines gemittelten $3 \times 1 \mu\text{m}^2$ großen Bereichs aus den Topographiemessungen in Abbildung 5.13(b). Die gestrichelten grauen horizontalen Linien beschreiben den Rand des in den Belastungsaufnahmen beanspruchten Testbereiches. Die schwarze Linie zeigt den Verlauf der ursprünglichen Oberfläche. Bei einer

peak force von $F_p > 44$ nN sind leicht plastische Verformungen der Oberflächentopographie zu erkennen (graue Linie). Bei der maximalen Belastung $F_p = 120$ nN (rote Linie) bildet sich auf der linken Seite im beanspruchten Bereich eine Vertiefung, während sich im rechten Bereich Material anhäuft (mit schwarzen Pfeilen markierte Bereiche im Höhenprofil). Es ist wichtig zu erwähnen, dass die primäre Scan-Richtung während der Messung, wie in Abbildung 5.14 angedeutet, von links nach rechts verlief.

Diese Ergebnisse zeigen, dass es einen Grenzwert für die in *PeakForce QNM*-Messungen eingestellte Kraft F_p gibt, bis zu dem man in der Auswertung der nanomechanischen Eigenschaften störende Effekte durch irreversible plastische Probenverformung vernachlässigen kann. Im elastischen Kraftbereich, also für $F_p < 44$ nN, drang die Messspitze beim Erhöhen der *peak force* immer tiefer in die amorphen ePP-Oberflächenbereiche ein. Im Gegensatz dazu änderte sich die Oberflächendeformation auf den kristallinen ePP-Bereichen bei zunehmender Maximalkraft kaum. Dieser Unterschied in der Messspitzen-Indentation führte dazu, dass die kristallinen Bereiche aus der aufgenommenen Oberflächen-Topographie herauszuragen scheinen, was wiederum zu dem in Abbildung 5.13(a) gezeigten Anstieg der Oberflächenrauigkeit beim Erhöhen der Maximalkraft führt.^{121, 131}

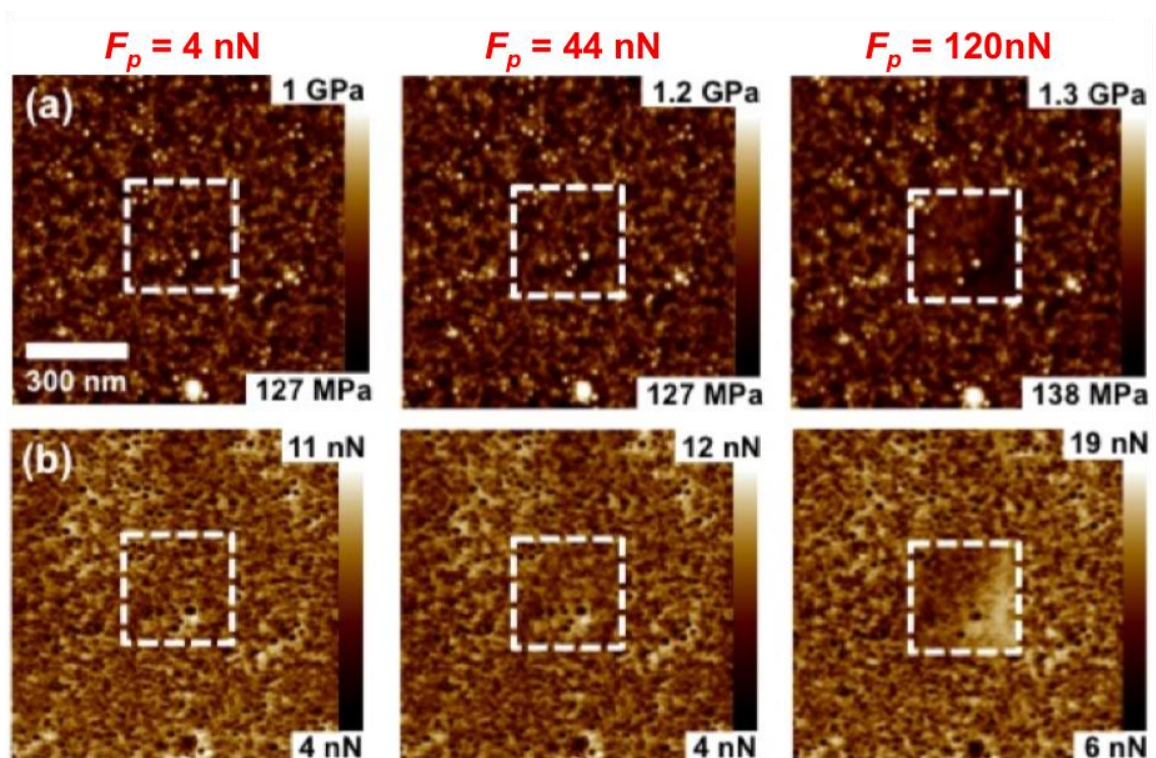


Abbildung 5.15: Veränderung der mechanischen Oberflächeneigenschaften während der Belastungsmessung im *PeakForce QNM*-Modus mit ansteigender Maximalkraft. (a) zeigt dabei den Elastizitätsmodul der Probenoberfläche für $F_p = 4$ nN (links), $F_p = 44$ nN (Mitte) und $F_p = 120$ nN (rechts). In der Zeile (b) sind die lateralen Verteilungen der Adhäsionskräfte für die drei Kräfte abgebildet. Während zwischen der linken und der mittleren Spalte kaum Unterschiede zu erkennen sind, kann man in der rechten Spalte deutlich das Resultat plastischer Verformung erkennen. (Reprinted (adapted) with permission from “Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene”, Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Oberhalb des elastischen Bereichs, das heißt für $F_p > 44$ nN, wurden die kristallinen Strukturen irreversibel in die umgebenden amorphen ePP-Bereiche gedrückt. Ein weiterer Effekt, der im plastischen Bereich beobachtet werden konnte, ist der Transport von Oberflächenmaterial in Richtung der primären Scan-Richtung. Dieser Effekt kann deutlich am Oberflächenprofil für $F_p = 120$ nN abgelesen werden (rote Linie in Abbildung 5.14). Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei dem durch die Messspitze bewegten Material um lose ataktische Polymer-Ketten, die nicht, oder nur leicht, in die semikristalline ePP-Materialstruktur eingebunden sind. Diese beiden plastischen Mechanismen, d.h. das Eindringen von kristallinen Strukturen und das Bewegen bzw. Aufhäufen von Oberflächenmaterial, führen zu einer Veränderung der *rms*-Rauigkeit der ePP-Oberfläche. Während das Eindringen kristalliner Strukturen die Oberflächenrauigkeit senkte, erhöht das Aufhäufen von Oberflächenmaterial den Wert der *rms*-Rauigkeit. Die Überlagerung dieser beiden Effekte führt zum in Abbildung 5.13 (a) gezeigten Abflachen des *rms*-Rauigkeits-Anstiegs oberhalb des rein elastischen Wechselwirkungs-Bereichs (für $F_p > 44$ nN).

Zum Vergleich sind in Abbildung 5.15 weitere nanomechanische Oberflächeneigenschaften für die drei ausgewählten Maximalkräfte $F_p = 4$ nN, $F_p = 44$ nN und $F_p = 120$ nN gezeigt. Dabei zeigt die erste Zeile (Abbildung 5.15 (a)) den Elastizitätsmodul der Probenoberfläche und die zweite Zeile (Abbildung 5.15 (b)) zeigt die laterale Verteilung der Adhäsionskräfte auf der Oberfläche. Während zwischen der ersten und der zweiten Spalte, also für $F_p = 4$ nN und $F_p = 44$ nN kaum Unterschiede zwischen den nanomechanischen Oberflächeneigenschaften zu erkennen sind, zeigen sich in der dritten Spalte deutlich durch plastische Oberflächendeformation erzeugte Veränderungen der Probeneigenschaften.

Die während der Messung in den amorphen Bereichen von der Messspitze in die Probe übertragene und dissipierte Energie (blaue Kreise in Abbildung 5.13 (c)) und der lineare Anstieg bei größer werdender Maximalkraft sind typisch für viscoelastische Eindringvorgänge während der *PeakForce QNM*-Messung. Im Vergleich dazu bleibt der beobachtete Wert der in die kristallinen Oberflächenbereiche dissipierten Energie für moderate Kräfte $F_p < 44$ nN nahezu konstant. Vergleiche des Dissipationsverhaltens mit Ergebnissen, die Garcia et al.¹⁴¹ mit dynamischen Rasterkraftmikroskopie-Verfahren auf Polystyrol (PS) und Polystyrol-Polybutadien (PS/PB)-Oberflächen beobachten konnten, zeigen ein ganz ähnliches Verhalten. Der Anstieg der Energiedissipation auf den kristallinen Bereichen (rote Rauten in Abbildung 5.13 (c)) für größere Druckkräfte ($F_p > 44$ nN) weist die gleiche Steigung auf wie die Daten, die in amorphen Bereichen aufgenommen wurden (blaue Kreise in Abbildung 5.13 (c)). Diese Tatsache untermauert die These, dass kristalline Strukturen ab einer gewissen Kraft in das umgebene amorphe Material hineingedrückt werden, was zwangsläufig zu einer Dissipation von Energie in dem amorphen Material führt.

Alle Ergebnisse der Belastungsmessung zeigen, dass die während der Messung ausgeübte Maximalkraft, und somit der Druck, der durch die Messspitze auf die Probe ausgeübt wird, ausschlaggebend dafür ist, ob eine Messung rein elastisch ist oder ob es zur inelastischen Vorgängen und zu plastischen Oberflächenverformungen kommt. Die direkte

Berechnung eines Grenzwertes für den Druck ist allerdings äußerst schwierig, da dieser nicht nur von der Kraft und dem Spitzenradius, sondern auch von der Eindringtiefe in die Probenoberfläche abhängt.

Um eine Beeinflussung der quantitativen Ergebnisse durch Abnutzungserscheinungen an der Messspitze ausschließen zu können, wurde der Radius der Messspitze vor und nach der Oberflächenanalyse kontrolliert. Ein weiterer Hinweis dafür, dass die in den Belastungsmessungen aufgenommenen Werte nicht durch eine Abnutzung der Messspitze beeinflusst wurden, ist, dass sich die in den äußeren Bereichen gemessenen topographischen und nanomechanischen Daten während der Belastungsmessung nicht veränderten (siehe Abbildung 5.13 (b) und Abbildung 5.15).

Einfluss der Aufnahme-Geschwindigkeit von Kraft-Abstands-Kurven

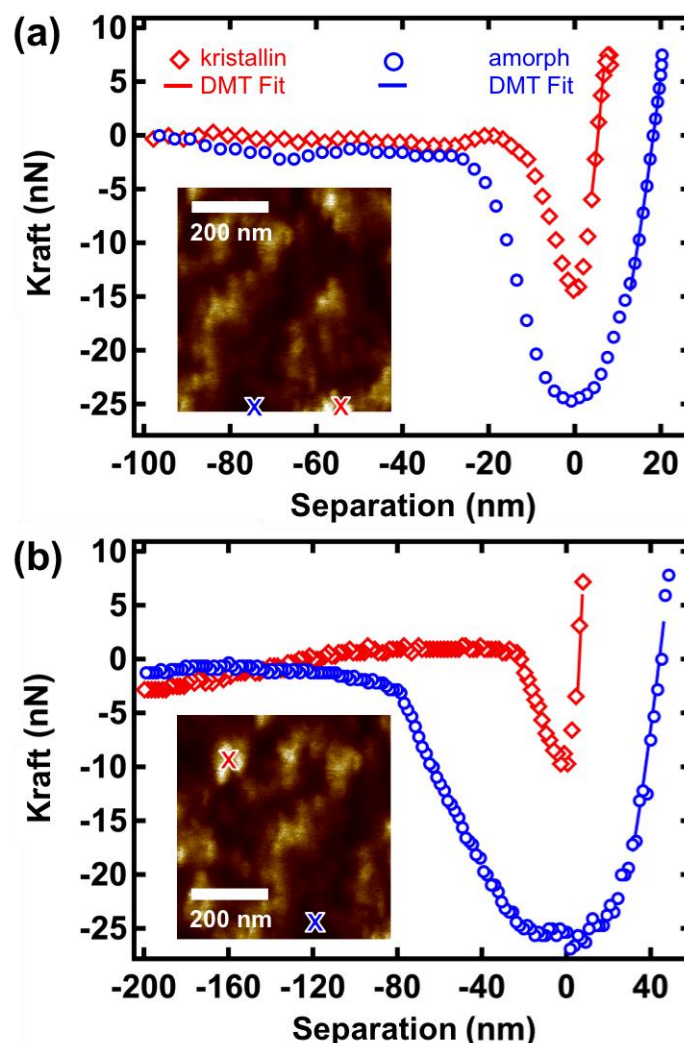


Abbildung 5.16: (a) Kraft-Abstands-Kurven aus PeakForce QNM-Messungen. Es wurde je eine Kurve aus einem kristallinen Bereich (rot) und einem amorphen Bereich (blau) dargestellt. (b) zeigt zwei statische Kraft-Abstands-Kurven die mit 1 Hz in einem kristallinen (rot) und einem amorphen Bereich (blau) aufgenommen wurden. Die roten bzw. blauen Linien in beiden Diagrammen zeigen den zur Bestimmung des Elastizitätsmoduls berechneten Fit an die jeweilige Kraft-Abstands-Kurve. (Reprinted (adapted) with permission from "Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene", Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Eine weitere Größe, die bekannt dafür ist, dass sie die quantitativen Ergebnisse von Kraft-Abstands-Messungen beeinflussen kann, ist die Aufnahme-Geschwindigkeit, also die Geschwindigkeit, mit der die Messspitze in die Probe eindringt, und mit der sie sich wieder aus der Probe zurückzieht. Um den Einfluss der Aufnahme-Geschwindigkeit auf die in dieser Arbeit mit einer Aufnahme-Rate von 2 kHz (d.h. 2000 Kraft-Abstands-Kurven pro Sekunde) aufgenommenen Daten zu beurteilen, wurden zusätzliche statische Kraft-Abstands-Kurven mit einer Aufnahme-Rate von 1 Hz an zufälligen Positionen auf kristallinen und amorphen Oberflächenbereichen gemessen. Die für diesen Vergleich benutzte semikristalline ePP-Oberfläche wurde zweimal geätzt um die dünne amorphe Grenzschicht auf der Probenoberfläche zu entfernen. Aus den statischen Kraft-Abstands-Kurven wurden dann, durch einen Fit des in Abschnitt 2.3.1 beschriebenen Derjaguin-Müller-Toporov (DMT) Modells⁵⁰, die nanomechanischen Oberflächeneigenschaften ermittelt. Außerdem wurden parallel einzelne Kraft-Abstands-Kurven aus den Rohdaten der *PeakForce QNM*-Messungen extrahiert und mit der gleichen Fit-Routine analysiert.

Die aus den *PeakForce QNM*-Daten, mit dem zuvor beschriebenen Algorithmus berechneten, durchschnittlichen Elastizitätswerte betrugen auf den kristallinen Oberflächenbereichen $E_{cr} = 489$ MPa und $E_{am} = 174$ MPa auf den amorphen Bereichen. Exemplarisch sind in Abbildung 5.16 (a) zwei Kraft-Abstands-Kurven gezeigt, die aus den mit einer Aufnahme-Rate von 2 kHz durchgeführten *PeakForce QNM*-Messungen extrahiert wurden. Dabei wird die auf kristalliner Oberfläche aufgenommene Kraft-Abstands-Kurve durch rote Rauten repräsentiert, während die blauen Kreise eine auf amorpher Oberfläche aufgenommene Kraft-Abstands-Kurve zeigen. Die durchgezogenen Linien in der ansteigenden Flanke zeigen das Ergebnis der Fit-Funktionen zur Bestimmung der jeweiligen Elastizitätsmodule. Der Elastizitätsmodul, der für die kristalline Kurve (rot) aus dem Fit-Parameter berechnet wurde, betrug $E_{cr} = 271$ MPa. Die Kraft-Abstands-Kurve aus dem amorphen Oberflächenbereich (blau) ergab einen Elastizitätsmodul von $E_{am} = 133$ MPa. Die in Abbildung 5.16 (b) gezeigten „statischen“ Kraft-Abstands-Kurven wurden auf die gleiche Weise ausgewertet. Wie in der Zusammenfassung in Tabelle 5.3 gezeigt ist, wurden in diesem Fall auf der amorphen Oberfläche $E_{am} = 49$ MPa und auf der kristallinen Oberfläche $E_{cr} = 312$ MPa gemessen.

Kraft-Abstands-Kurven	Scan-Rate (Hz)	E_{am} (MPa)	E_{cr} (MPa)
Durchschnittswerte aus <i>PeakForce QNM</i> -Auswerteroutine	2000	174	489
Einzelne Kraft-Abstands-Kurven aus der <i>PeakForce QNM</i> -Messung	2000	133	271
statische Kraft-Abstands-Kurven	1	49	312

Tabelle 5.3: Durch verschiedene Indentations-Experimente und Auswerteverfahren ermittelte Elastizitätsmodule für kristalline und amorphe Bereiche auf der Oberfläche von semikristallinen ePP-Proben.

Ein Vergleich der in Tabelle 5.3 gezeigten Werte zeigt nur kleine Abweichungen der Elastizitätsmodule für die zwei verschiedenen Methoden. Dabei ist zu beachten, dass die Werte in der ersten Zeile Durchschnittswerte über den gesamten kristallinen bzw. amorphen Bereich darstellen, während die Werte in der zweiten und dritten Spalte aus Einzelmessungen mit einer wesentlich geringeren Aufnahme-Rate ermittelt wurden.

Für eine genauere Betrachtung der Abhängigkeit des Indentations-Prozesses von der Scan-Rate ist in Abbildung 5.17 modellhaft die sinusförmige Trajektorie einer Messspitze (schwarze Linie) und ihre Geschwindigkeit (rote Linie) im *PeakForce QNM*-Modus, als Funktion der Zeit, gezeigt. In diesem Beispiel wird die Position der Probenoberfläche durch die graue Linie parallel zur t-Achse symbolisiert. Die Eindringtiefe in diesem Beispiel beträgt 6 nm. Dies ist ein Wert, wie er typischerweise auf den amorphen ePP-Oberflächenbereichen in den *PeakForce QNM*-Messungen beobachtet wurde. Die vertikalen gestrichelten Linien markieren den Kontaktpunkt (bei $t \approx 3.5$ ms) und den Punkt, wo der Kontakt zwischen Messspitze und Probenoberfläche abreißt (bei $t \approx 4.0$ ms). Die Kreise in diesem Diagramm markieren die Geschwindigkeiten der Messspitze beim Eindringen ($v_{dyn} = -528 \mu\text{m/s}$) in die Oberfläche und beim Ablösen von der Oberfläche ($v_{dyn} = 528 \mu\text{m/s}$).

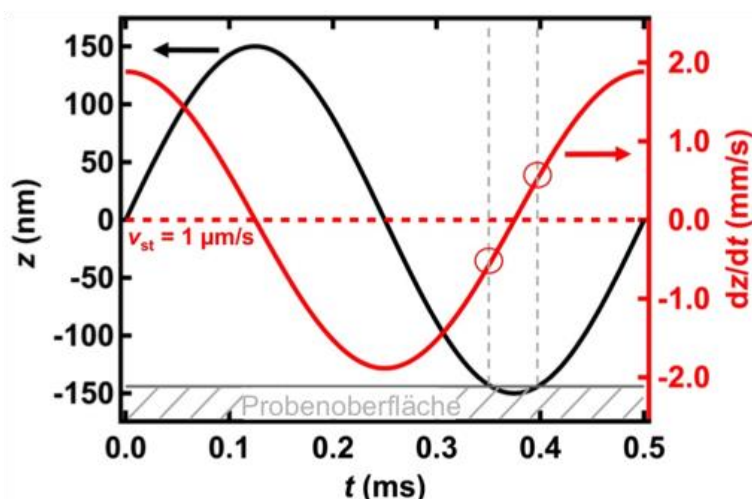


Abbildung 5.17: Skizze zur Veranschaulichung des Bewegungsablaufes der Messspitze während der Aufnahme von Kraft-Abstands-Kurven. Die schwarze Kurve beschreibt die sinusförmige Trajektorie einer Messspitze im *PeakForce QNM*-Modus, und die rote Kurve ist die entsprechende Geschwindigkeit der Messspitze. Die graue, waagerechte Linie repräsentiert die Probenoberfläche. Die horizontalen, grauen Linien markieren den Kontaktpunkt bzw. den Ablösungspunkt. Die Messspitzengeschwindigkeit für statische Kraft-Abstands-Kurven ist als gestrichelte rote Linie eingezeichnet. (Reprinted (adapted) with permission from "Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene", Voss, A.; Stark, R. W.; Dietz, C., *Macromolecules* 2014, 47 (15), 5236-5245. Copyright 2014 American Chemical Society.)

Bei statischen Kraft-Abstands-Messungen kann die Messspitzentrajektorie durch eine Dreiecksfunktion beschrieben werden. Für die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen mit 1 Hz Aufnahme-Rate betrug die Geschwindigkeit der Messspitze konstant etwa $1 \mu\text{m/s}$ (gestrichelte rote Linie in Abbildung 5.17). Damit wird klar, dass sich die Geschwindigkeiten der Eindringprozesse bei Aufnahme-Raten von 2 kHz und 1 Hz um mehr als zwei Größenordnungen unterschieden. Die vergleichsweise kleinen Unterschiede der in Tabelle 5.3 gezeigten Elastizitätswerte lassen darauf schließen, dass es in die-

sem Fall, wenn überhaupt, nur eine geringe Beeinflussung der mechanischen Eigenschaften durch die hohe Aufnahme-Rate im *PeakForce QNM*-Modus geben kann.

Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten nanomechanischen Eigenschaften der kristallinen isotaktischen ePP-Phase und der amorphen ataktischen ePP-Phase in semikristallinen ePP-Proben zeigen deutliche Abweichungen zu den in reinem isotaktischen und ataktischen Polypropylen ermittelten Eigenschaften.^{130, 142} Dies liegt an der engen strukturellen Verflechtung der beiden Phasen im semikristallinen Material und daran, dass die Messung der nanomechanischen Eigenschaften durch tiefer liegende Strukturen im Festkörper beeinflusst werden kann.

Zusammenfassung: Schichtweise Quantifizierung der nanomechanischen Eigenschaften von elastomerem Polypropylen

Semikristalline ePP-Beschichtungen wurden in einem nanotomographischen Verfahren mit einem Rasterkraftmikroskop charakterisiert. Für die Untersuchung der mechanischen und strukturellen Eigenschaften in verschiedenen Tiefen wurde die Oberfläche schichtweise mit einem chemischen Ätzverfahren abgetragen. Nach jedem Ätzschritt wurde vom exakt gleichen Oberflächenbereich eine hochauflösende *PeakForce QNM*-Messung aufgenommen. Dabei wurden simultan sowohl topographische als auch nanomechanische Informationen der Elastizität, Adhäsion und der dissipierten Energie mit einer lateralen Auflösung von etwa 15 nm vermessen. Die Veränderung dieser nanomechanischen Eigenschaften nach dem Abtragen der ersten Oberflächenschichten zeigte eindeutige Hinweise auf eine dünne amorphe Schicht auf der Probenoberfläche. Innerhalb der semikristallinen Struktur wurde die amorphe Phase aus ataktischem ePP beim Ätzen im Allgemeinen schneller entfernt als die kristalline Phase aus isotaktischen Polypropylen-Ketten. Während der Untersuchung fielen lokale Inhomogenitäten in der Struktur des semikristallinen Materials auf. Diese runden Defekte zeichneten sich durch einen deutlich erhöhten kristallinen Materialanteil und eine höhere Ätzrate, verglichen mit dem umgebenden Material, aus. Dies führte nach mehrmaligem Abtragen der Oberfläche zu lokalen Vertiefungen in der Oberflächentopographie. Es ist wahrscheinlich, dass diese lokalen Inhomogenitäten das Resultat einer Phasenseparation zwischen kurzen und langen isotaktischen Polymerketten in der Polymerlösung sind. Obwohl diese strukturellen Inhomogenitäten auf einer extrem kleinen Skala von unter einem μm auftreten, können sie dennoch Auswirkungen auf die makroskopische Materialstabilität haben. In einem Belastungsexperiment, bei dem *PeakForce QNM*-Messungen mit ansteigender Maximalkraft aufgenommen wurden, wurde ein Grenzwert für die Maximalkraft ermittelt ($F_p < 44 \text{ nN}$), bis zu dem man von einer elastischen Indentation der Messspitze ohne plastische Oberflächenveränderung ausgehen kann. Für Messungen oberhalb dieses Grenzwertes wurden plastische Oberflächenveränderungen beobachtet und untersucht. Um einen Einfluss der hohen Geschwindigkeiten der Messspitze, im *PeakForce QNM*-Modus mit 2 kHz Scan-Rate, auf die quantitativen nanomechanischen Ergebnisse auszuschließen, wurden in Vergleichsmessungen konventionelle Kraft-Abstands-Kurven mit 1 Hz Scan-Rate aufgenommen. Ein Vergleich der quantitativen Ergebnisse sowie der Messspitzengeschwindigkeiten beim Eindringen in die Probenoberfläche ließ keine nennenswerte Abhängigkeit der Messwerte von der Aufnahme-Rate erkennen.

5.3. Charakterisierung von strukturierten bioaktiven Polymer- und Peptid-Polymer-Oberflächen

Im folgenden Abschnitt sind die Ergebnisse der topographischen und nanomechanischen Oberflächencharakterisierung der in Abschnitt 3.3 beschriebenen bioaktiven Polymer- bzw. Peptid-Polymer-Oberflächen zusammengefasst. Für diese Untersuchungen wurden im Rahmen dieser Arbeit rasterkraftmikroskopische Messungen sowohl an der Luft als auch in flüssiger Umgebung (in Milli-Q-Wasser) aufgenommen und ausgewertet, um die nanomechanischen Eigenschaften der Probenoberflächen, sowie das Quellverhalten in Flüssigkeit zu bestimmen. Um die, durch das lithographische Herstellungsverfahren erreichbare minimale Strukturgröße und die Oberflächenbeschaffenheit zu ermitteln, wurden Oberflächentopographien von strukturierten bioaktiven Peptid-Polymerbeschichtungen aufgenommen. Außerdem wurden verschiedene Parameter, wie zum Beispiel die Konzentrationen der verwendeten Lösungen, während der Herstellung der Peptid-Polymerlagen systematisch variiert, um den Einfluss dieser Herstellungsparameter auf die resultierenden Oberflächencharakteristiken zu untersuchen. Eine detaillierte Beschreibung der Herstellungsprozesse für die verschiedenen in diesem Abschnitt untersuchten Oberflächen ist in Abschnitt 4.1 zu finden.

Die auf Polymernetzwerken verankerten bioaktiven Peptid-Polymernetzwerke wurden in drei Schritten analysiert. Zunächst wurden sowohl P(DMAA_{98,8%}-co-MaBP_{1,2%}) Polymernetzwerke auf Siliziumoberflächen verankert als auch bioaktive PDMAA-GRGDSP-Hybrid-Polymerbeschichtungen auf ein Siliziumsubstrat aufgebracht. Dies ermöglichte eine separate Untersuchung der zellabweisenden Polymernetzwerke und der für biologische Zellen adsorptions-begünstigend wirkenden Peptid-Polymerbeschichtungen. Im letzten Schritt wurden Proben untersucht, bei denen die Peptid-Polymerbeschichtung lithographisch auf dem Polymernetzwerk verankert wurde (siehe Abschnitt 4.1). Wie in verschiedenen Studien gezeigt wurde, siedeln sich Zellen bevorzugt auf den Peptid-Polymer-Bereichen der strukturierten Oberfläche ab und meiden Bereiche, an denen das Polymernetzwerk an die Oberfläche tritt.¹⁰⁻¹² Die im Folgenden zusammengefassten Ergebnisse dienen zur genaueren Charakterisierung dieser bioaktiven Oberflächen. Dabei liegt der Fokus auf der Vermessung der Elastizität, der Oberflächenadhäsion und des Quellverhaltens bei Kontakt mit Wasser. Diese Informationen sind für physiologische und zellbiologische Anwendungen von Bedeutung, da sowohl die nanomechanischen Eigenschaften als auch die Oberflächentopographie einen Einfluss auf anhaftende Zellen haben.¹⁵

Oberflächengebundene Polymernetzwerke in Luft und Flüssigkeit

Die Schichtdicke der Polymernetzwerke lässt sich während der Herstellung der Oberflächenbeschichtung durch die Variation verschiedener Parameter im Herstellungsprozess kontrollieren.

Um den Einfluss der Drehgeschwindigkeit beim Rotationsbeschichten und den Einfluss der Konzentration der Polymernetzwerklösung auf die Schichtdicke der Polymernetzwerke zu untersuchen wurden, wie in Abschnitt 4.1 beschrieben, Siliziumscheiben mit Polymernetzwerken beschichtet, wobei während der Herstellung die beiden oben genann-

ten Parameter variiert wurden. Eine Zuordnung der Probennummern zu den bei der Herstellung benutzten Parametern ist in Tabelle 5.4 zusammengefasst.

	Konzentration		
Geschwindigkeit [rpm]	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml
5000	1	4	-
3000	2	5	-
1000	3	6	7

Tabelle 5.4: Zuordnung der Probennummern (1-7) zu den bei der Herstellung verwendeten Konzentrationen der $P(\text{DMAA}_{98,8\%}\text{-co-MaBP}_{1,2\%})$ Polymer-Netzwerk-Lösung, sowie zu den Geschwindigkeiten, die beim Rotationsbeschichtungsverfahren eingestellt wurden.

Abbildung 5.18 zeigt die Ergebnisse der in Abschnitt 4.3 beschriebenen Schichtdickenbestimmung für trockene Polymernetzwerke. Die Dicke der trockenen Polymernetzwerke hängt sowohl von der Konzentration der verwendeten $P(\text{DMAA}_{98,8\%}\text{-co-MaBP}_{1,2\%})$ -Lösung als auch von der Geschwindigkeit während der Rotationsbeschichtung ab. Das dünnste gemessene Polymernetzwerk mit einer Dicke von 30 nm war das der Probe 1. Diese wurde mit der niedrigsten Lösungs-Konzentration von 5 mg/ml und einer vergleichbar hohen Dreheschwindigkeit von 5000 rpm (*engl.: revolutions per minute*; Umdrehungen pro Minute) hergestellt. Die Polymernetzwerk-Probe mit der größten Schichtdicke die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt wurde war Probe 7. Diese wurde mit 1000 rpm und einer Lösungs-Konzentration von 20 mg/ml hergestellt. Die Schichtdicke dieser Probe betrug 354 nm. Wie in Abbildung 5.18 zu erkennen ist, führt sowohl die Erhöhung der Konzentration der Polymernetzwerk-Lösung als auch die Verringerung der Rotationsgeschwindigkeit des Beschichtungsprozesses zu einer Erhöhung der Schichtdicke.

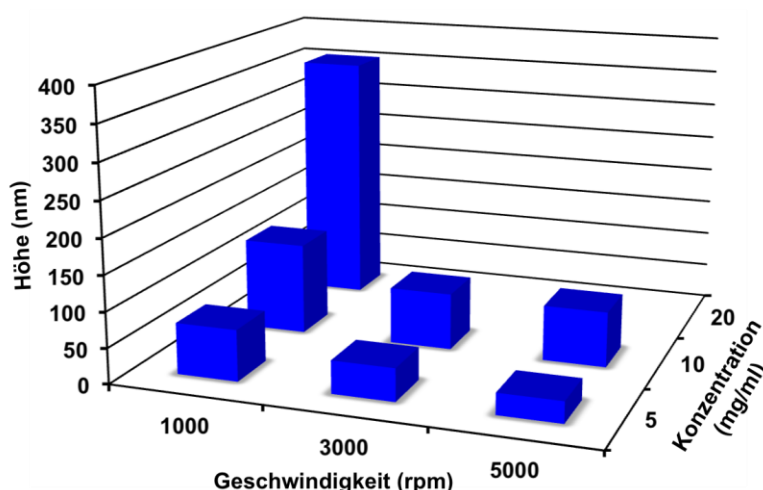


Abbildung 5.18: Übersicht über die Schichtdicken der trockenen $P(\text{DMAA}_{98,8\%}\text{-co-MaBP}_{1,2\%})$ Polymernetzwerke. Die Dicke der Beschichtung hängt sowohl von der Konzentration der Netzwerklösung als auch von der eingestellten Rotationsgeschwindigkeit beim Beschichtungsprozess ab. Die Topographiedaten der mit 20 mg/ml und 3000 rpm bzw. 5000 rpm hergestellten Proben konnten nicht bezüglich der Schichtdicke ausgewertet werden, da bei der Herstellung keine homogenen Oberflächen entstanden.

Um das Quellverhalten der homogenen Polymer-Netzwerke zu quantifizieren, wurden die Schichtdickenmessungen, wie in Abschnitt 4.3 beschrieben, in flüssiger Umgebung wiederholt. Zum Vergleich sind die gemessenen Schichtdicken in trockener und in flüssiger Umgebung in Tabelle 5.5 aufgelistet und in Abbildung 5.19 graphisch dargestellt. In dieser Darstellung ist gut zu erkennen, dass sich alle Polymernetzwerke bei Kontakt mit deionisiertem Wasser (Milli-Q-Wasser) ausdehnten. Dabei wurde eine Zunahme der Schichtdicke um das 2.0- bis 3.3-fache der ursprünglichen Schichtdicke beobachtet. Bei den dünneren Polymernetzwerk-Proben 1 und 2 war die Quellung mit eindimensionalen (d.h. linearen) Ausdehnungskoeffizienten von 2.6 bzw. 2.0 etwas weniger stark ausgeprägt als bei den übrigen Proben. Der lineare Ausdehnungskoeffizient lag bei diesen im Mittel bei 3.0.

Proben-Nr.	d _{Luft} (nm)	d _{Wasser} (nm)
1	30	78
2	46	96
3	72	231
4	78	260
5	80	227
6	129	350
7	354	1067

Tabelle 5.5: Übersicht über die an der Luft und in Flüssigkeit gemessenen Schichtdicken der Polymernetzwerke.

Eine von Toomey et al.¹⁰⁸ veröffentlichte Studie beschreibt sowohl experimentell als auch theoretisch das Ausdehnungsverhalten von P(DMAA_{98.8%}-co-MaBP_{1.2%}) Polymernetzwerken. Anhand von ellipsometrischen Oberflächenmessungen wurden in dieser Studie die linearen und volumetrischen Ausdehnungskoeffizienten für verschiedene MaBP-Konzentrationen zwischen 0.05 mol% und 10 mol% bestimmt. Aus den in dieser Studie ermittelten linearen Ausdehnungskoeffizienten für oberflächengebundene Polymernetzwerke lässt sich für einen MaBP-Anteil von 1.2 mol% ein Ausdehnungskoeffizient von etwa 3.5 abschätzen. Der Unterschied zu den in dieser Arbeit beobachteten Werten lässt sich dadurch erklären, dass es wegen der deutlich höheren Elastizität der aufgequollenen Probe zu einem geringfügigen Eindringen der Messspitze in die Probenoberfläche kommt. Dies kann zu einer systematischen Unterschätzung der Schichtdicke im aufgequollenen Zustand und somit zu kleineren linearen Ausdehnungskoeffizienten führen. Der Einfluss dieses Effekts auf den resultierenden Ausdehnungskoeffizienten ist für dünne Schichten ungleich größer, was die im Vergleich zur Studie Toomey et al.¹⁰⁸ noch kleineren linearen Ausdehnungskoeffizienten von Probe 1 und 2 erklärt.

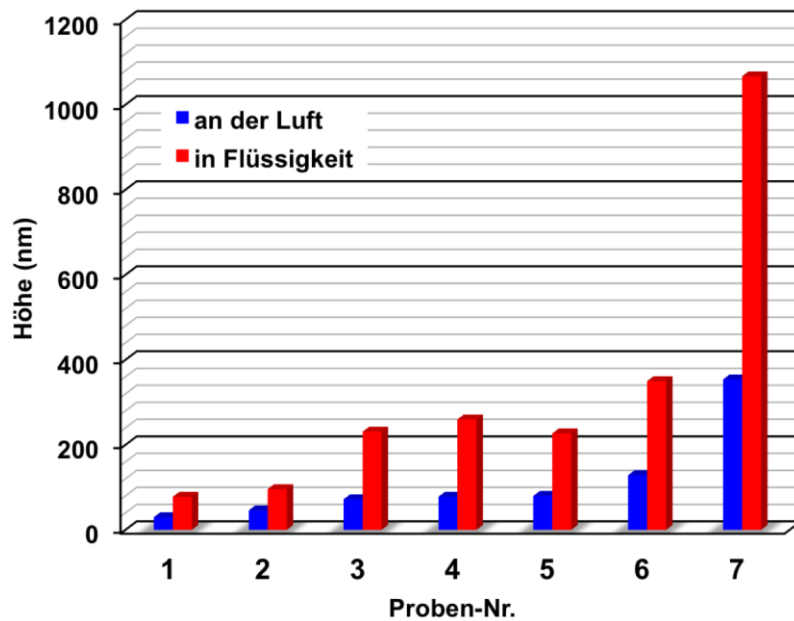


Abbildung 5.19: Aus den im Tapping-Modus aufgenommenen Topographiedaten ermittelte Schichtdicken der $P(\text{DMAA-co-MaBP}_{1,2\%})$ Polymernetzwerke. Für die Proben 1-7 ist hier jeweils die Dicke des Polymernetzwerkes an der Luft (blau) und in Flüssigkeit (rot) gezeigt.

Zur Bestimmung der Oberflächenelastizitäten der trockenen Polymernetzwerke wurden von den sieben Proben aus Tabelle 5.4 wie in Abschnitt 4.3 beschriebenen Kraft-Abstands-Kurven im *PeakForce QNM*-Modus aufgenommen. In Abbildung 5.20 sind die Topographie und der Elastizitätsmodul aus der *PeakForce QNM*-Messung von Probe 5 im trockenen (nicht aufgequollenen) Zustand gezeigt. Dabei ist in Abbildung 5.20 (a) zu erkennen, dass das Polymernetzwerk eine sehr glatte und homogene Oberfläche bildet. Die rms-Rauigkeit wurde auf einem $1\ \mu\text{m}^2$ großen Bereich ausgewertet und betrug $0.327\ \text{nm}$. Die laterale Verteilung der Oberflächenelastizität ist in Abbildung 5.20 (b) gezeigt. Auch hier lässt sich eine sehr homogene Verteilung des Elastizitätsmoduls feststellen. Im Mittel beträgt der Elastizitätsmodul der Oberfläche $(1.88 \pm 0.04)\ \text{GPa}$.

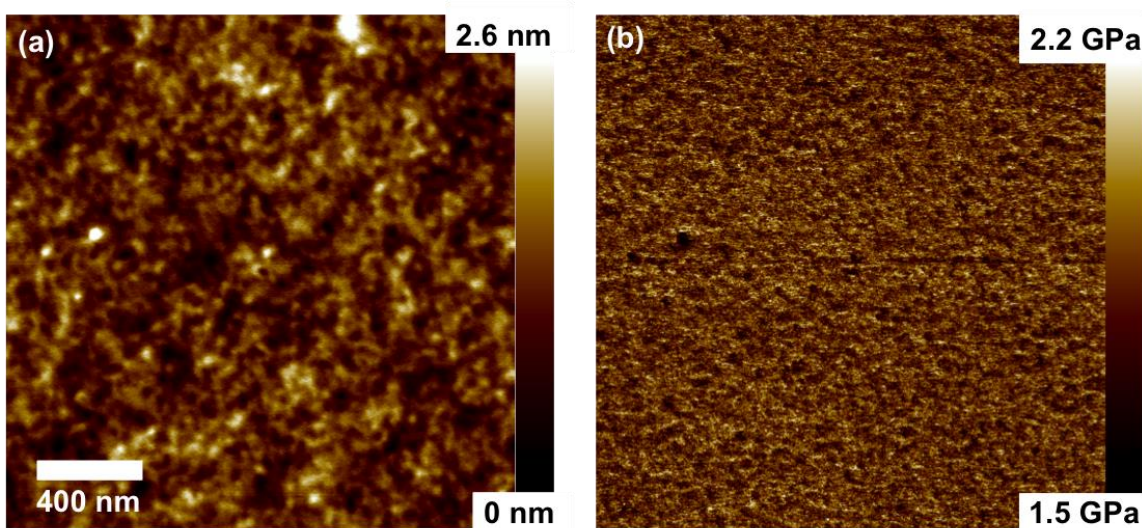


Abbildung 5.20: (a) Oberflächentopographie und (b) Elastizitätsmodul der Probe 5, gemessen an der Luft mit *PeakForce QNM*.

Mit Hilfe der Aufnahmesoftware des Herstellers wurden aus den *PeakForce QNM*-Messungen für alle Schichtdicken die Elastizitätswerte der Polymernetzwerk-Oberflächen ermittelt. Diese sind in Abbildung 5.21 mit blauen Rauten gekennzeichnet. Um die Ergebnisse der mit 2 kHz aufgenommenen *PeakForce QNM*-Messung zu validieren, wurden ergänzend statische Kraft-Abstands-Kurven mit einer Aufnahme rate von 1 Hz aufgenommen. Zur Auswertung dieser Kontrollmessung wurde wegen der vernachlässigbar kleinen Adhäsionskräfte zwischen der verwendeten Messspitze und der Probenoberfläche, das in Abschnitt 2.3.1 beschriebene Hertz-Modell verwendet. Die auf diese Weise gemessenen Elastizitätsmoduli sind in Abbildung 5.21 durch rote Kreise gekennzeichnet.

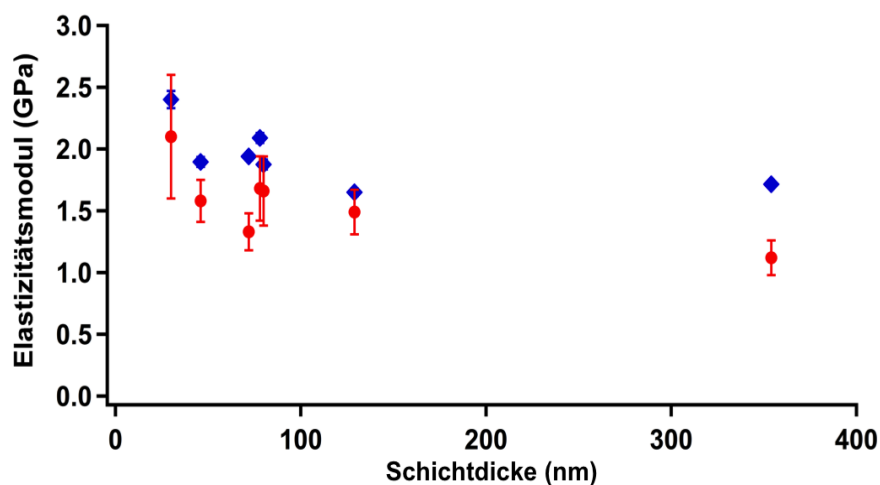


Abbildung 5.21: Übersicht über die Oberflächenelastizitäten der trockenen $P(\text{DMAA-co-MaBP}_{1,2\%})$ Polymernetzwerke. In diesem Diagramm ist der Elastizitätsmodul gegen die Schichtdicke des Polymernetzwerkes aufgetragen. Die blauen Rauten zeigen die aus den *PeakForce QNM*-Messungen mit Hilfe der Auswertesoftware ermittelten Daten. Die roten Punkte wurden aus statischen Kraft-Abstands-Kurven durch einen Fit des sog. Hertz-Modells bestimmt.

Beim Vergleich der Ergebnisse beider Messmethoden ist zu erkennen, dass die *PeakForce QNM*-Elastizitätswerte (2 kHz) und die Ergebnisse der bei 1 Hz aufgenommenen statischen Kraft-Abstands-Kurven für alle untersuchten Schichtdicken innerhalb der gleichen Größenordnung liegen. Außerdem ist in den Elastizitätswerten ein Anstieg des Elastizitätsmoduls für geringe Schichtdicken unter 100 nm zu erkennen.

Diese Beobachtung stimmt gut mit den Ergebnissen von Domke et al.¹²⁸ überein. Die Autoren dieser Studie bestimmten, durch die Auswertung von rasterkraftmikroskopischen Kraft-Abstands-Kurven mit dem Hertz-Modell, die Elastizität von Polymerfilmen in Abhängigkeit von der Filmdicke. Exemplarisch wurden in dieser Studie dünne Gelatinefilme auf einem Glas-Substrat vermessen. Für Filmdicken unter 100 nm beschreiben die Autoren einen deutlichen Anstieg des Elastizitätsmoduls.

Der Grund für den Anstieg des Elastizitätsmoduls ist der Einfluss des Substrats unter den Polymernetzwerken. Bei dünner werdenden Schichtdicken wird die Elastizitätsmessung immer mehr vom harten Substrat beeinflusst, was zu einer Erhöhung des Elastizitätsmoduls und somit zu einer scheinbar zunehmenden Härte des Polymernetzwerkes führt.^{128,}

Strukturierte Peptid-Polymer-Monolagen

Um das lithographische Beschichtungsverfahren zum Aufbringen von strukturierten PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymerbeschichtungen zu charakterisieren, wurden, wie in Abschnitt 4.3 beschrieben, Topographieaufnahmen von trockenen strukturierten Peptid-Polymer-Monolagen auf einem Silizium-Substrat aufgenommen.

Für diese Experimente wurden Lithographie-Masken mit verschiedenen geometrischen Mustern (z.B. Dreiecke, Kreise, Streifen und Quadrate) verwendet. Abbildung 5.22 (a) zeigt exemplarisch die Oberflächentopographie einer strukturierten Peptid-Polymer-Monolage, bei der die lithographisch auf dem Substrat verankerten Bereiche ein Punktemuster bilden. Die Topographiedaten sind zur Veranschaulichung als 3D-Plot in Abbildung 5.22 (b) dargestellt. Der Oberflächenausschnitt hat eine Größe von etwa $60\text{ }\mu\text{m} \times 60\text{ }\mu\text{m}$. Die Durchmesser der einzelnen Kreise betragen dabei etwa $7\text{ }\mu\text{m}$. In dieser Darstellung ist die Gleichmäßigkeit der strukturierten Oberfläche gut zu erkennen. Zur Vermessung der Höhe der Monolage wurde aus den Höhendaten des roten rechteckigen Bereiches in Abbildung 5.22 (a) das Höhenprofil (c) extrahiert. Die Schichtdicke der Monolage kann im Höhenprofil aus dem Höhenunterschied zwischen der Oberfläche der Peptid-Polymer-Bereiche und der Siliziumoberfläche bestimmt werden und beträgt in diesem Fall etwa 4 nm . Die von der Lithographie-Maske abhängige minimal erreichbare Strukturgröße lässt sich aus dem Durchmesser der in Abbildung 5.22 (a) und (b) gezeigten Kreise auf einen Wert von etwa $7\text{ }\mu\text{m}$ abschätzen.

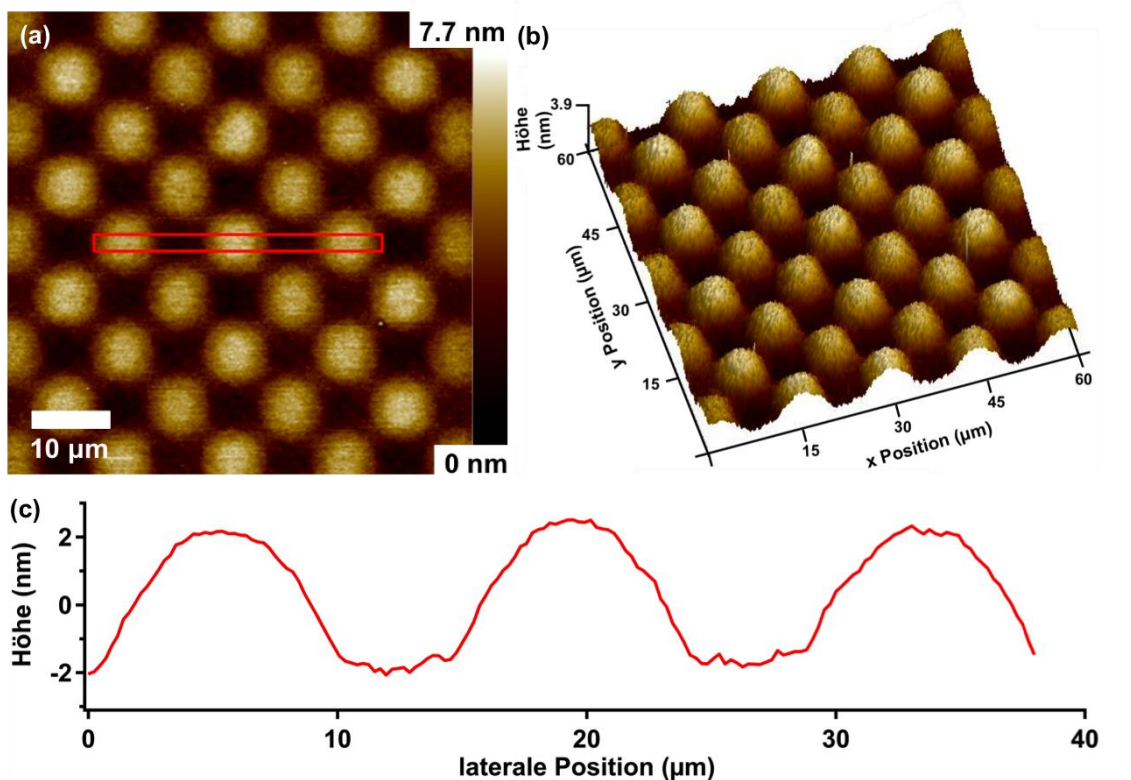


Abbildung 5.22: Topographische Oberflächencharakterisierung einer strukturierten PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymerbeschichtung. Wie in der $512 \times 512\text{ px}$ Übersichtsaufnahme (a) zu erkennen ist, wurde bei der Herstellung eine Lithographie-Maske mit einem Punktemuster benutzt. (b) 3D-Darstellung der Topographie der Probenoberfläche (c) Höhenprofil, das aus dem roten rechteckigen Bereich in (a) extrahiert wurde.

Bioaktive Peptid-Polymer Schichten auf oberflächengebundenen Polymernetzwerken

Für die Herstellung der in diesem Abschnitt untersuchten Proben wurden, wie in Abschnitt 4.1 im Detail beschrieben, zunächst oberflächengebundene P(DMAA_{98.8%}-co-MaBP_{1.2%}) Polymernetzwerke auf Silizium-Substraten hergestellt. Auf die Oberfläche dieser Netzwerke wurde in einem zweiten Schritt durch ein lithographisches Verfahren eine strukturierte PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymer-Monolage angebunden.

	Verfahren 1	Verfahren 2	Verfahren 3
Schritt 1	5 s bei 300 U/min	5 s bei 500 U/min	Aufbringen der Lösung
Schritt 2	Aufbringen der Lösung	Aufbringen der Lösung	5 s bei 300 U/min
Schritt 3	25 s bei 2000 U/min	25 s bei 2000 U/min	25 s bei 2000 U/min
Proben-Nr.	1,7	2,5	3,4,6

Tabelle 5.6: Übersicht über die verschiedenen Verfahren zur Beschichtung der Polymernetzwerk-Proben mit bioaktiven Peptid-Polymer-Monolagen.

Auch bei der Beschichtung der an das Substrat gebundenen Polymernetzwerke mit der Peptid-Polymer-Monolage wurden verschiedene Verfahren angewandt, um den Einfluss der Geschwindigkeit bei der Rotationsbeschichtung auf die Schichtdicke und das Quellverhalten zu ermitteln. Die drei verschiedenen Abläufe zur Rotationsbeschichtung der Polymernetzwerke mit Peptid-Polymer-Monolagen sind im Detail in Abschnitt 4.1 beschrieben. Jedes der Verfahren besteht aus drei Schritten. Sie unterscheiden sich in den verwendeten Rotationsgeschwindigkeiten sowie im Zeitpunkt, zu dem die Hybridpolymerlösung aufgebracht wird. In Tabelle 5.6 sind die drei Beschichtungsverfahren zusammengefasst. Außerdem enthält diese Tabelle eine Zuordnung der Proben-Nummer zum jeweiligen Herstellungsverfahren.

Für eine mikroskopische Untersuchung dieser Proben und zur Quantifizierung des Quellverhaltens beim Kontakt mit Wasser wurden von den in Tabelle 5.6 aufgeführten Proben rasterkraftmikroskopische Topographieaufnahmen an der Luft und in flüssiger Umgebung aufgenommen. Dafür wurden, wie in Abschnitt 4.3 beschrieben, Messungen im *Tapping*-Modus mit einem Rasterkraftmikroskop aufgenommen und Topographiebilder der jeweiligen Oberfläche generiert.

Abbildung 5.23 zeigt die im *Tapping*-Modus aufgenommenen Oberflächeneigenschaften der Probe Nr. 7. Im Topographiebild (a) ist deutlich das Schachbrettmuster der zur Herstellung dieser Probe verwendeten Lithographie-Maske zu erkennen. Die dunklen Flächen in dieser Darstellung sind Bereiche des Polymernetzwerkes und die hellen (leicht erhöhten) Flächen sind Bereiche, auf denen die Peptid-Polymer-Monolage lithographisch angebunden wurde. Die Höhe dieser Flächen, relativ zur Oberfläche des Polymernetzwerkes, betrug im Mittel etwa 1 nm. Die Tatsache, dass das Schachbrettmuster im Pha-

senbild (Abbildung 5.23 (b)) überhaupt nicht zu erkennen ist, deutet darauf hin, dass es keine messbaren Unterschiede der nanomechanischen Eigenschaften zwischen der Polymernetzwerk-Oberfläche und der Peptid-Polymer-Oberfläche gibt.^{74, 144} Eine weitere mögliche Erklärung für die Ununterscheidbarkeit der beiden Oberflächen im Phasenbild ist, dass die trockene Peptid-Polymer-Monolage aufgrund ihrer sehr geringe Dicke die nanomechanischen Eigenschaften der Oberfläche des Polymernetzwerkes nicht wesentlich verändert.

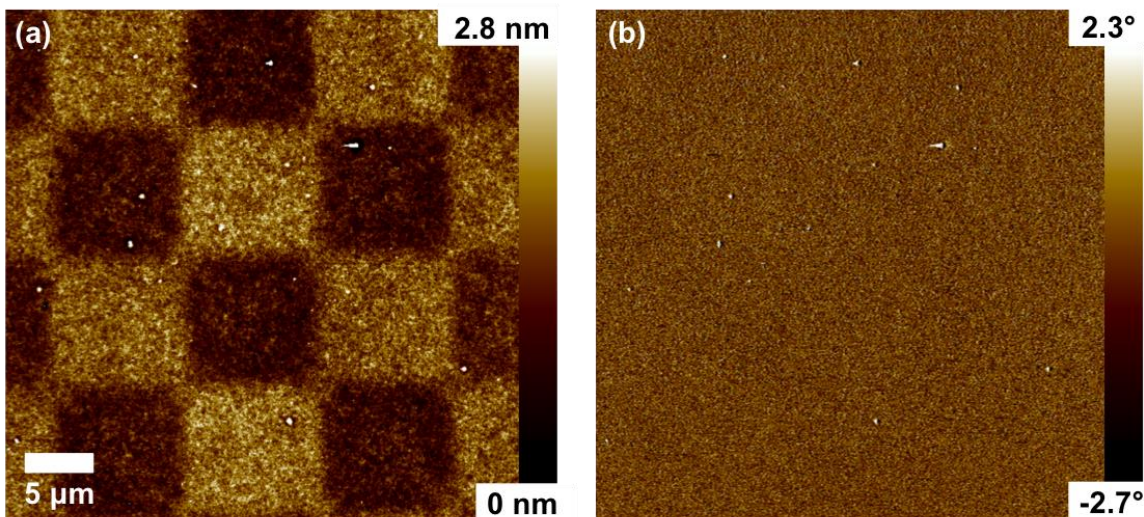


Abbildung 5.23: Tapping-Modus-Messung für eine strukturierte, auf einem Polymernetzwerk verankerte Peptid-Polymer-Monolage im trockenen Zustand. (a) Oberflächentopographie der strukturierten Oberfläche. Es ist deutlich das Schachbrettmuster, das durch die in diesem Fall verwendete Lithographie-Maske erzeugt wurde, zu erkennen. (b) Phasenbild der Tapping-Modus-Aufnahme. Der fehlende Kontrast im Phasenbild deutet darauf hin, dass es im trockenen Zustand keinen messbaren Unterschied der nanomechanischen Probeneigenschaften gibt.¹⁴⁴

Zur quantitativen Verifizierung wurden die trockenen Oberflächen ausgewählter Proben außerdem mit einem Ellipsometer Experiment von Dr. Sönke Petersen aus der Arbeitsgruppe von Prof. Biesalski vermessen.

Exemplarisch ist in Abbildung 5.24 die mit dem Ellipsometer gemessene Oberflächentopographie von Probe 7 gezeigt. Am Höhenprofil in (b) lässt sich eine mittlere Strukturhöhe von etwa 1.5 nm ablesen. Diese Strukturhöhe der Peptid-Polymer-Monolage deckt sich mit der beobachteten Strukturhöhe in den Tapping-Modus-Messungen. Das Topographiebild (a) sowie die 3D-Darstellung der Oberfläche (c) zeigen deutlich die schachbrettartige Struktur der Peptid-Polymer-Monolage. Die mittlere Höhe der mit Peptid-Polymer überzogenen Bereiche betrug in diesem Fall etwa 64 nm, während die unbeschichtete Polymernetzwerkoberfläche eine Höhe von etwa 62.5 nm aufwies. Die mit dem Ellipsometer ermittelte Schichtdicke der strukturierten Peptid-Polymer-Monolage stimmt mit den Ergebnissen der rasterkraftmikroskopischen Messungen überein.

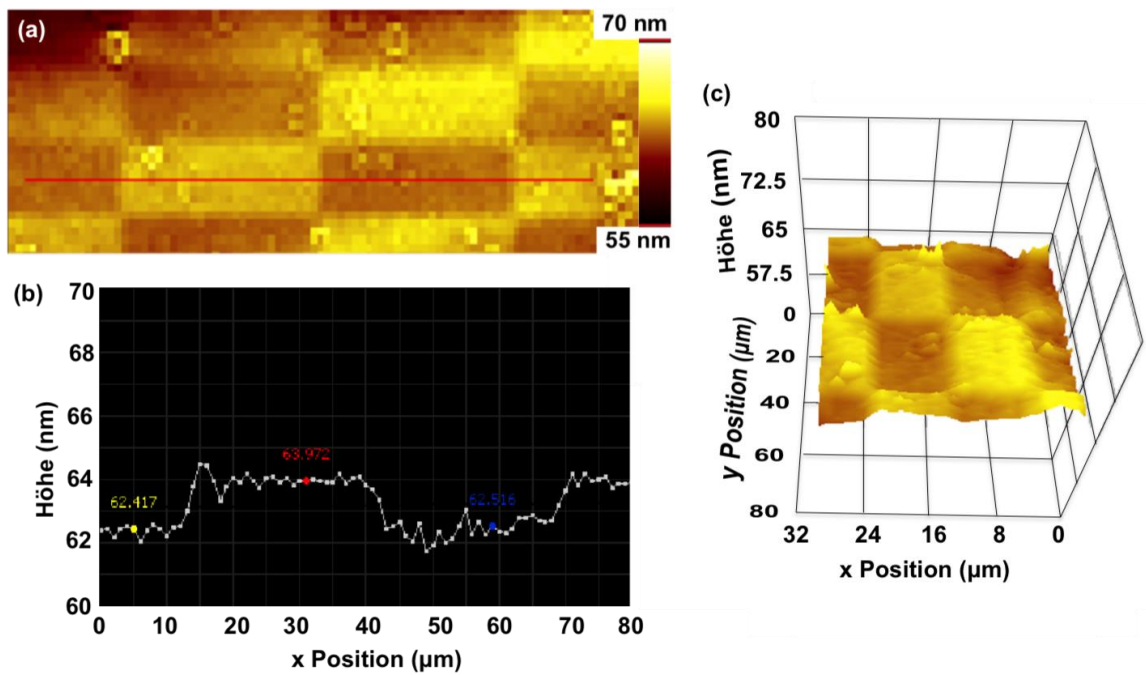


Abbildung 5.24: (a) Mittels Ellipsometrie-Messung aufgenommene Oberflächentopographie einer auf ein Polymernetzwerk gebundenen bioaktiven Peptid-Polymer-Beschichtung. (b) Höhenprofil, in dem man die Strukturhöhe der Peptid-Polymer-Monolage von etwa 1.5 nm ablesen kann. (c) 3D-Darstellung der Oberflächentopographie.

In den *Tapping*-Modus-Aufnahmen, die nach dem Aufquellen der Proben 1 bis 7 aufgenommen wurden, ist deutlich zu erkennen, dass die Peptid-Polymer-Monolage stark aufquillt. Abbildung 5.25 zeigt eine *Tapping*-Modus-Messung von einer gequollenen Probe.

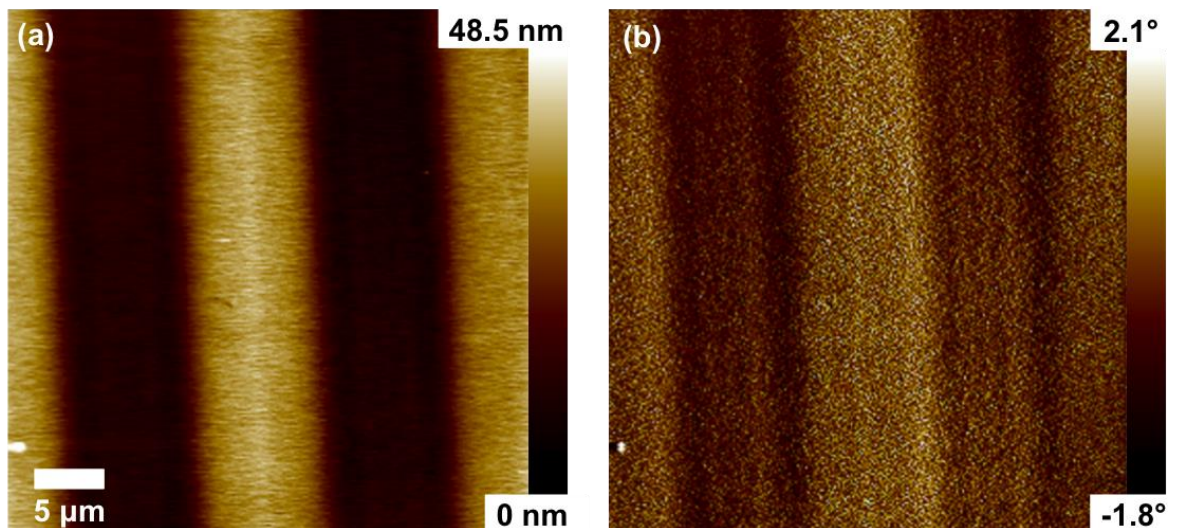


Abbildung 5.25: *Tapping*-Modus-Aufnahme für eine strukturierte, auf einem Polymernetzwerk verankerte Peptid-Polymer-Monolage in flüssiger Umgebung. (a) Oberflächentopographie der strukturierten Oberfläche. Der Höhenunterschied zwischen der Polymernetzwerkoberfläche und der Oberfläche der Peptid-Polymer-Beschichtung beträgt im gequollenen Zustand etwa 30 nm. (b) Phasenbild der *Tapping* Modus-Aufnahme. Sowohl im Topographiebild als auch im Phasenbild ist das Streifenmuster, das durch die in diesem Fall verwendete Lithographie-Maske erzeugt wurde, zu erkennen.

In dieser Darstellung ist die Oberflächentopographie einer strukturierten Peptid-Polymer-Monolage auf einem Polymernetzwerk gezeigt, die in flüssiger Umgebung aufgequollen ist. Der Höhenunterschied zwischen der gequollenen Polymernetzwerk-Oberfläche und der gequollenen Oberfläche der Peptid-Polymer-Monolage beträgt im Mittel etwa 25 nm. Im Gegensatz zur Messung an der Luft ist das Muster der strukturierten Peptid-Polymer-Oberfläche auch im Phasenbild zu erkennen. Da zwischen dem Phasenbild und den nanomechanischen Oberflächeneigenschaften der im *Tapping*-Modus vermessenen Probe ein direkter Zusammenhang besteht,¹⁴⁴ kann davon ausgegangen werden, dass sich die nanomechanischen Eigenschaften der aufgequollenen Peptid-Polymer-Monolage von den Eigenschaften des aufgequollenen Polymernetzwerkes deutlich unterscheiden.

Aus den im *Tapping*-Modus aufgenommenen Topographieaufnahmen der in Tabelle 5.6 aufgelisteten Proben wurden im Weiteren die Höhendifferenz zwischen der Polymernetzwerk-Oberfläche und der Oberfläche der Peptid-Polymer-Monolage ausgewertet und somit die Schichtdicken-Änderung der Peptid-Polymer-Monolage durch Aufquellung ermittelt. In Abbildung 5.26 sind die Schichtdicken der verschiedenen Proben im trockenen sowie im gequollenen Zustand nach Herstellungsverfahren gruppiert dargestellt.

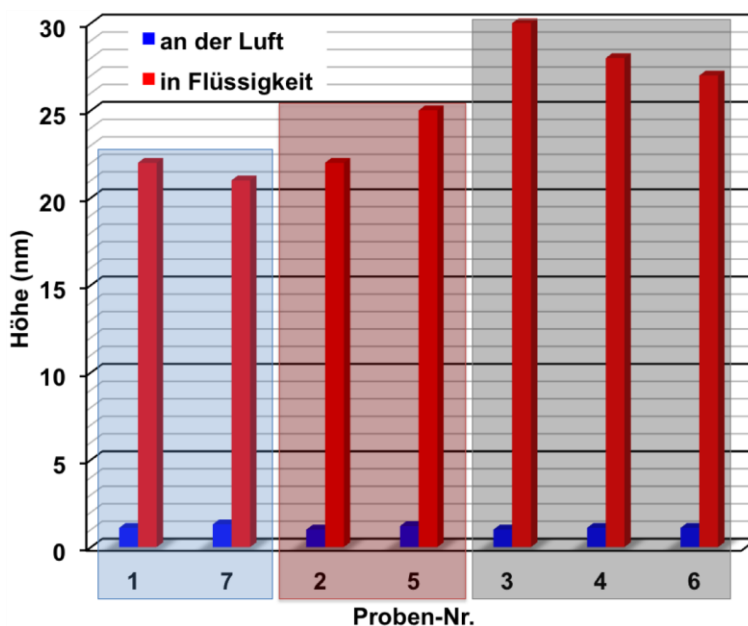


Abbildung 5.26: Übersicht über die Schichtdicken der verschiedenen auf Polymernetzwerken verankerten Peptid-Polymer-Monolagen. Die blauen Balken zeigen die Schichtdicken der trockenen Peptid-Polymer-Schicht, und die roten Balken markieren die Schichtdicke im gequollenen Zustand relativ zur Polymernetzwerk-Oberfläche. Die Proben sind dem Herstellungs-Verfahren entsprechend in drei Gruppen unterteilt.

Wie in Abbildung 5.26 gezeigt ist, schwellen die Peptid-Polymer-Monolagen in Wasser um das 20 bis 30 Fache ihrer ursprünglichen Dicke an. Es ist außerdem eine leichte Abhängigkeit des Quellverhaltens der Monolagen von den Herstellungsparametern im Beschichtungsprozess zu beobachten. Die Proben der Verfahren 1 und 2 unterscheiden sich bezüglich ihres Quellverhaltens kaum. Dies entspricht den Erwartungen, da die Verfahren sehr ähnlich sind und sich nur geringfügig in ihrer Rotationsgeschwindigkeit unter-

scheiden. Im Vergleich zu Verfahren 3 zeigen sich jedoch deutlichere Unterschiede, da in diesem Fall die Reihenfolgen verändert wurden. Die wahrscheinlichste Erklärung für die leichten Abweichungen der Schichtdicke der gequollenen Proben ist, dass die drei Herstellungsverfahren zu sub-nanometer großen Unterschieden der Schichtdicke führten, welche im trockenen Zustand nicht nachgewiesen werden konnten. Im aufgequollenen Zustand könnten diese minimalen Unterschiede jedoch messbare Unterschiede der Schichtdicke hervorrufen.

Das im Vergleich zu den $P(\text{DMAA}_{98,8\%}\text{-co-MaBP}_{1,2\%})$ Polymernetzwerken deutlich stärkere Aufquellen der strukturierten PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymer-Monolagen lässt sich durch den strukturellen Unterschied der beiden Polymertypen erklären. Während in den Polymernetzwerken die einzelnen Moleküle untereinander vernetzt sind, sind die Polymere der Monolagen nur an das Substrat beziehungsweise an den Polymernetzwerk-Untergrund angebunden und können wegen der fehlenden Vernetzungsstellen deutlich stärker Quellen.

Für die Bestimmung der nanomechanischen Oberflächeneigenschaften wurden von ausgewählten Proben außerdem *PeakForce QNM*-Messungen an der Luft und in deionisiertem Wasser (Milli-Q-Wasser) aufgenommen. Die auf diese Weise bestimmten Oberflächentopographien sowie die laterale Verteilung der Oberflächenelastizität und der Adhäsionskraft sind in Abbildung 5.27 und in Abbildung 5.28 gezeigt.

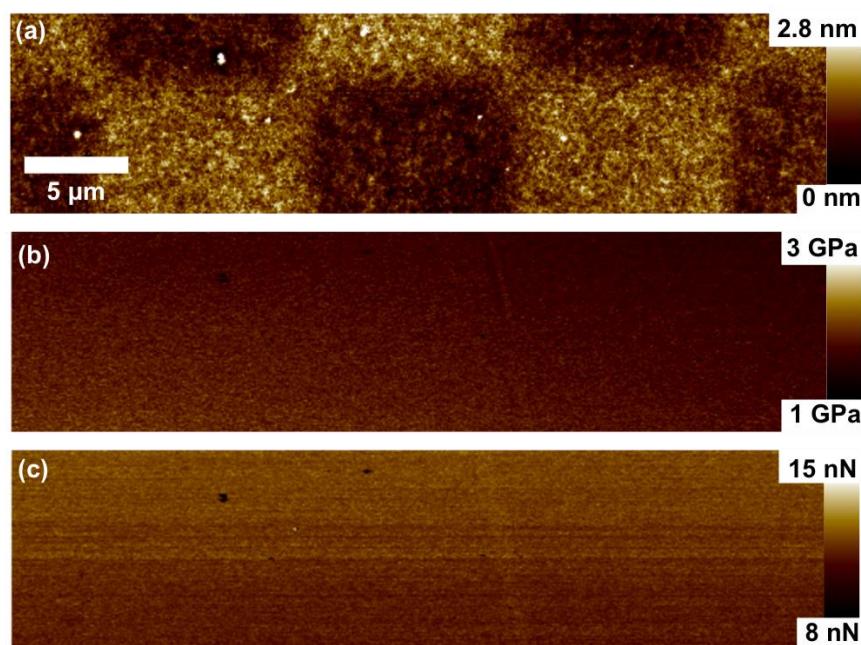


Abbildung 5.27: *PeakForce QNM*-Messung einer trockenen, auf einem Polymernetzwerk angebunden, strukturierten Peptid-Polymer-Monolage. Aus den in dieser Messung aufgenommenen Kraft-Abstands-Kurven wurden drei Oberflächeneigenschaften ermittelt: (a) Die Topographie der Probenoberfläche, (b) der Elastizitätsmodul und (c) die Adhäsionskraft, die zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche wirkt.

Die aus der *PeakForce QNM*-Messung der trockenen Probe ermittelte Oberflächentopographie ist in Abbildung 5.27 (a) gezeigt. Hier ist ebenfalls deutlich das durch die Maske verursachte Schachbrettmuster der Peptid-Polymer-Monolagen zu erkennen. Die aus die-

sen Daten ermittelte Strukturhöhe betrug im Mittel 1.1 nm und stimmt somit gut mit den Ergebnissen der *Tapping-Modus* Aufnahmen und mit den Ergebnissen der Ellipsometrie-Messungen überein. Im Elastizitätsbild ist für die trockene Probenoberfläche, wie in Abbildung 5.27 (b) gezeigt, kein Unterschied zwischen den Peptid-Polymer-Monolagen und der Polymernetzwerkoberfläche zu erkennen. Der mittlere Elastizitätsmodul lag in diesem Fall bei etwa 1.9 GPa. Die strukturierte dünne Peptid-Polymer-Monolage scheint auch auf die in Abbildung 5.27 (c) gezeigte Oberflächenadhäsion der trockenen Proben keinen Einfluss zu haben. Die mittlere Adhäsionskraft zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche lag bei etwa 11 nN. Die Tatsache, dass weder die Elastizität noch die Adhäsion durch die dünne bioaktive Peptid-Polymer-Monolage beeinflusst werden, untermauert die Vermutung, dass diese dünne Beschichtung im trockenen Zustand keinen Einfluss auf die nanomechanischen Eigenschaften der Probenoberfläche hat. Diese Feststellung stimmt außerdem sehr gut mit den Ergebnissen der zu Beginn dieses Abschnitts beschriebenen *Tapping-Modus*-Messung einer trockenen, mit einem Polymernetzwerk verankerten, Peptid-Polymer-Monolage überein.

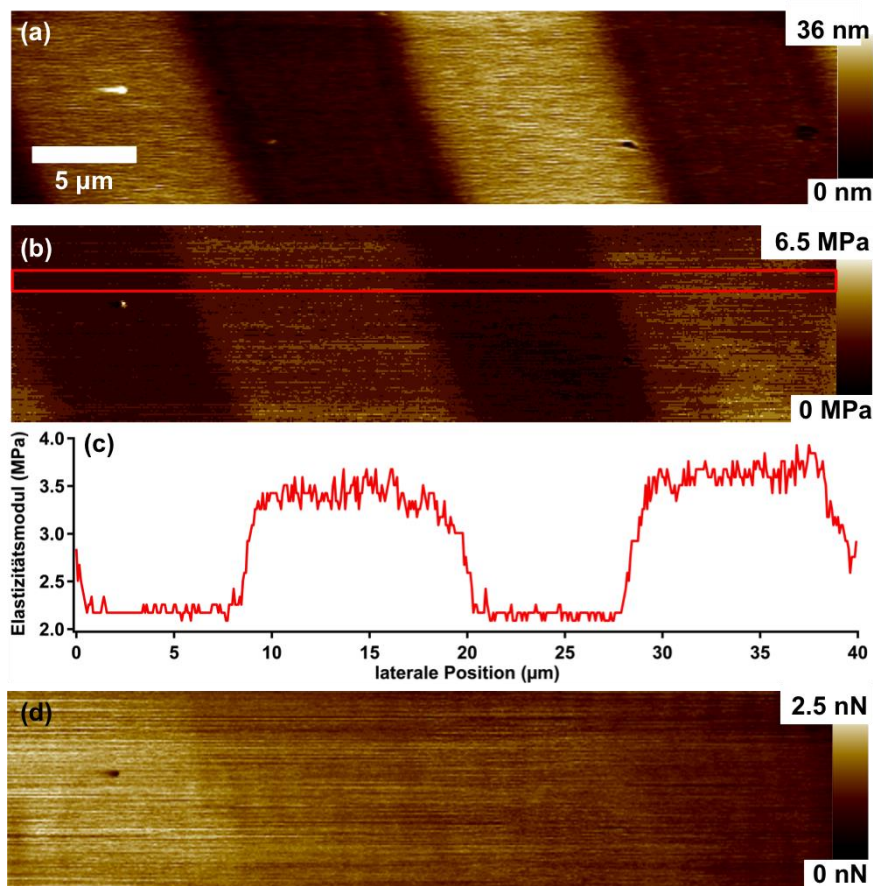


Abbildung 5.28: PeakForce QNM-Messung einer aufgequollenen und auf einem Polymernetzwerk ange-bunden strukturierten Peptid-Polymer-Monolage. Aus den in dieser Messung aufgenommenen Kraft-Abstands-Kurven wurden drei Oberflächeneigenschaften ermittelt: (a) Die Topographie der Probenoberfläche, (b) der Elastizitätsmodul, (c) laterales Profil des Elastizitätsmoduls, das aus den Daten innerhalb des roten Rechtecks in (b) erzeugt wurde. (d) Adhäsionskraft, die zwischen der Messspitze und der Probenoberfläche wirkt.

Die Ergebnisse der PeakForce QNM-Messung von der aufgequollenen Probe zeigen in den Topographiedaten eine ganz ähnliche Zunahme der Schichtdicke, wie sie in Messun-

gen im *Tapping*-Modus beobachtet wurden. Die aus dem in Abbildung 5.28 (a) Topographiebild bestimmte Schichtdicke der Peptid-Polymer-Schicht beträgt im aufgequollenen Zustand 30 nm. Neben der Schichtdicke wurden durch das Aufquellen auch die nanomechanischen Eigenschaften der Probenoberfläche verändert. In der lateralen Verteilung des Elastizitätsmoduls in Abbildung 5.28 (b) kann man deutlich die strukturierte Peptid-Polymer-Beschichtung erkennen. Das laterale Profil (c), das aus den Daten innerhalb des roten Kastens in Abbildung 5.28 (b) erstellt wurde, verdeutlicht die Unterschiede im Elastizitätsmodul. Der Elastizitätsmodul der Polymernetzwerk-Oberfläche hat sich durch das Aufquellen von 1.9 GPa auf etwa 3.5 MPa verringert, und die Peptid-Polymer-Oberflächen sind sogar noch weicher geworden. Im Mittel wurde hier ein Elastizitätsmodul von etwa 2.2 MPa gemessen. Dieser Unterschied lässt sich mit dem, durch die stärkere Quellung der Peptid-Polymer-Monolage verursachten, größeren Wasseranteil in der aufgequollenen Monolage erklären. Die Adhäsionskraft verringert sich von 11 nN auf etwa 2 nN. Außerdem scheint die in Abbildung 5.28 (d) gezeigte Adhäsionskraft auf Peptid-Polymer-Beschichtung etwas größer zu sein als die auf dem Polymernetzwerk gemessene Adhäsionskraft. Da der Unterschied im Bereich von nur wenigen zehntel Nano-Newton liegt, ist eine quantitative Auswertung auf der Basis der in dieser Arbeit aufgenommenen Messdaten leider nicht möglich.

Zusammenfassung: Charakterisierung von strukturierten bioaktiven Polymer- und Peptid-Polymer-Oberflächen

Für die nanomechanische Charakterisierung der auf Polymernetzwerke gebundenen Peptid-Polymer-Beschichtungen wurden zunächst die einzelnen Bestandteile dieser Hybridbeschichtung, also oberflächengebundene $\text{P(DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ -Polymernetzwerke und PDMAA-GRGDSP-Peptid-Polymerbeschichtungen, separat untersucht. In einer weiteren Messreihe wurden auf Polymernetzwerke gebundene Peptid-Polymerbeschichtungen mit Fokus auf ihre nanomechanischen Eigenschaften und ihr Quellungsverhalten vermessen. Im *Tapping*-Modus untersuchte Polymernetzwerke hatten je nach Herstellungsverfahren Schichtdicken zwischen 30 nm und 354 nm. Dabei wurde eine klare Abhängigkeit der Schichtdicke von der verwendeten Geschwindigkeit des Rotationsbeschichtungs-Verfahrens sowie von der Konzentration der $\text{P(DMAA}_{98.8\%}\text{-co-MaBP}_{1.2\%})$ -Lösung beobachtet. In weiteren *Tapping*-Modus-Aufnahmen in flüssiger Umgebung wurde gezeigt, dass die Netzwerke durch das Aufquellen in deionisiertem Wasser (Milli-Q-Wasser) um das 2- bis 3.3-fache anschwellen. Für die separate Untersuchung der Peptid-Polymer-Beschichtungen wurden durch ein lithographisches Verfahren strukturierte PDMAA-GRGDSP-Peptid-Polymerbeschichtungen auf Siliziumoberflächen aufgebracht. Von diesen bioaktiven Oberflächen wurden rasterkraftmikroskopische Aufnahmen im *Tapping*-Modus aufgenommen. Die minimale erreichbare laterale Strukturgröße konnte aus den Topographie-Aufnahmen auf 7 μm abgeschätzt werden. Die gemessene Schichtdicke betrug in diesem Fall etwa 4 nm.

Für die Charakterisierung der auf Polymernetzwerke gebundenen Peptid-Polymer-Beschichtungen wurden verschiedene Proben im trockenen und im gequollenen Zustand rasterkraftmikroskopisch im *Tapping*-Modus untersucht, um die Oberfläche topographisch zu vermessen. Zur Validierung dieser Messung wurde eine ausgewählte Probe

zusätzlich im trockenen Zustand ellipsometrisch vermessen. Die auf diese Weise aufgenommenen Oberflächen-Topographien stimmen quantitativ mit den Ergebnissen der *Tapping*-Modus-Messung überein. Die Schichtdicke der trockenen Peptid-Polymerschicht betrug etwa 1 nm. Für die nanomechanische Charakterisierung wurden außerdem *PeakForce QNM*-Messungen der trockenen und der aufgequollenen Oberflächen aufgenommen. Diese Messungen lieferten neben der Oberflächentopographie außerdem quantitative Informationen über die nanomechanischen Eigenschaften wie den Elastizitätsmodul und das Adhäsionsverhalten. Aus den Topographiedaten im trockenen und im gequollenen Zustand konnte eine 20- bis 30-fache Zunahme der Oberflächendicke durch das Aufquellen beobachtet werden. Auf den trockenen Oberflächen konnte kein Unterschied der nanomechanischen Eigenschaften zwischen den Peptid-Polymer-Oberflächenbereichen und den Oberflächen des Polymernetzwerkes festgestellt werden. Im gequollenen Zustand war im Gegensatz dazu ein deutlicher Unterschied des Elastizitätsmoduls beider Bereiche zu erkennen. Die aufgequollenen Peptid-Polymer-Oberflächenbereiche waren mit einem Elastizitätsmodul von 2.2 MPa deutlich weicher als die gequollene Polymernetzwerk-Oberfläche (3.5 MPa). Sowohl das im Vergleich zum Polymernetzwerk stärkere Aufquellen, als auch der niedrigere Elastizitätsmodul lassen sich durch die fehlenden Vernetzungsstellen in den PDMAA-GRGDSP-Hybridpolymer-Monolagen erklären.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neuartiges bildgebendes Verfahren aus dem Bereich der Rasterkraftmikroskopie auf vier völlig unterschiedliche Probenarten angewandt und hinsichtlich der erreichbaren Auflösung und der Zuverlässigkeit der auf diese Weise ermittelten Daten validiert. Dabei wurden synthetische Polymeroberflächen, biofunktionale Peptid-Polymeroberflächen und biologische Proben menschlicher Antikörper untersucht. In den Analysen dieser Proben wurden nanomechanische Materialeigenschaften mit hoher lateraler Auflösung unter verschiedenen Umweltbedingungen aufgenommen. In den Untersuchungen zur Bestimmung der Oberflächenelastizität konnten mit einem Rasterkraftmikroskop im sogenannten PeakForce QNM-Modus biologische und synthetische Proben mit zum Teil stark heterogenen Verteilungen der Oberflächenelastizität mit einer Auflösung von nur wenigen Mikrometern aufgenommen werden. Dabei wurden die Probenoberflächen sowohl in trockener als auch in flüssiger Umgebung vermessen. Die auf diese Weise gesammelten Informationen konnten für die Interpretation der jeweiligen Messergebnisse mit den simultan gemessenen Oberflächentopographien korreliert werden. Die angewandte Messtechnik erlaubt außerdem Einblicke in weitere nanomechanische Eigenschaften wie die laterale Verteilung der Adhäsionskraft, der Energiedissipation und der Oberflächendeformation auf der gleichen nanoskopischen Skala. Zusätzlich zu den Messungen im PeakForce QNM-Modus wurden verschiedene Proben außerdem im Tapping Modus und durch die Aufnahme von einzelnen Kraft-Abstands-Kurven topographisch und nanomechanisch charakterisiert, um die im PeakForce QNM-Modus gemessenen Resultate zu validieren.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass es möglich ist, die Substrukturen von biologischen Makromolekülen nanomechanisch mit Rasterkraftmikroskopen im *PeakForce* QNM-Modus zu untersuchen. Die in dieser Arbeit beschriebenen Ergebnisse zeigen die laterale Verteilung von nanomechanischen Eigenschaften in einer Auflösung, die es erlaubt, strukturelle Untereinheiten der Makromoleküle zu unterscheiden. Ein besonderer Fokus lag dabei auf der Auswertung der Elastizität, der Adhäsionskräfte und der Deformation. Da die strukturelle Elastizität sowie adhäsive Prozesse beim Andocken von Antikörpern an schädliche Erreger eine entscheidende Rolle spielen,^{4, 7} können die Ergebnisse dieser Arbeit zu einem besseren biophysikalischen und physiologischen Verständnis von Immunreaktionen führen. Nachdem die Anwendbarkeit der in dieser Arbeit verwendeten bildgebenen Verfahren zur hochaufgelösten nanomechanischen Charakterisierung von humanen Antikörpern in den Versuchen dieser Arbeit belegt wurde, könnte in einem nächsten Schritt das Verhalten und die nanomechanischen Charakteristiken der Antikörper in physiologischer Lösung untersucht werden. In diesem Zusammenhang könnte ebenfalls die Reaktion der Makromoleküle auf verschiedene externe Reize erforscht werden.

Es wurde am Beispiel von semikristallinem elastomerem Polypropylen gezeigt, dass durch die Kombination von *PeakForce* QNM-Messungen mit einem nanotomographischen Nassätzverfahren eine tiefenaufgelöste strukturelle Charakterisierung der nanomechanischen Eigenschaften von heterogenen Festkörpern möglich ist. In den Messungen dieses Probenotyps wurde anhand von tiefenaufgelösten Elastizitätsverteilungen die Existenz einer dünnen amorphen Grenzschicht auf der Probenoberfläche sowie das Vorkom-

men von durch Phasenseparation entstehenden Strukturdefekten nachgewiesen. Die mit dieser neuartigen Messtechnik messbaren dreidimensionalen, strukturellen Materialeigenschaften können unter anderem in der Materialentwicklung genutzt werden, um aus der strukturellen Verteilung von nanomechanischen Eigenschaften einen Zusammenhang mit makroskopischen Materialeigenschaften herzustellen. Die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen zeigen, dass die verwendete Technik für diese Art synthetischer Proben eine wichtige und vergleichsweise einfache Methode zur tiefenaufgelösten nanomechanischen Analyse von heterogenen Elastizitätsverteilungen darstellt. Die vorgestellte Methode könnte in weiterführenden Untersuchungen dazu verwendet werden, andere semikristalline Polymere strukturell und nanomechanisch zu charakterisieren, oder um, in weiteren Untersuchungen, ein besseres Verständnis für das Auftreten der in dieser Arbeit beobachteten Strukturdefekte zu erlangen.

Es lassen sich auch bioaktive synthetische Materialien in flüssiger Umgebung mit Hilfe von *PeakForce* QNM-Messungen quantitativ charakterisieren. In diesem speziellen Fall wurden strukturierte Peptid-Polymer-Monolagen, die auf schwellbaren Polymernetzwerken angebunden waren, nanomechanisch untersucht. Durch das spezielle Design dieser Oberfläche wurden auf mikroskopischer Ebene Bereiche geschaffen, die das Anhaften von biologischen Zellen unterstützen, und zum anderen Bereiche, an denen sich keine Zellen ansiedeln. Bei der Vermessung dieser Proben wurde ausgenutzt, dass in diesem Rasterkraftmikroskopie-Modus sowohl topographische Oberflächeninformationen als auch die laterale Verteilung der Elastizität und der Oberflächenadhäsion simultan vermessen werden können. Aus den Ergebnissen ließ sich das Quellverhalten der Polymernetzwerke und der Peptid-Polymer-Monolage charakterisieren, während gleichzeitig die Veränderung der Oberflächenelastizität und der Adhäsionskraft durch das Quellen der Probe quantifiziert werden konnte. Diese Erkenntnisse sind bei der Entwicklung von Anwendungen für diese Art bioaktiver Oberflächen von Bedeutung, da die mechanischen und topographischen Eigenschaften von Oberflächen einen Einfluss auf das Verhalten von biologischen Zellen haben, die sich auf diesen Oberflächen ansiedeln. In diesem Teil der Arbeit wurde gezeigt, dass die verwendeten rasterkraftmikroskopischen Verfahren ein nützliches Werkzeug für die systematische Entwicklung von bioaktiven Oberflächen darstellen. Aufbauend auf diese Arbeit könnten weitere Messreihen durchgeführt werden, um das Ansiedeln von biologischen Zellen auf den bioaktiven Oberflächen zu analysieren und somit einen Zusammenhang zwischen den hier beschriebenen nanomechanischen Oberflächeneigenschaften und dem Zellverhalten zu untersuchen.

Anhang: Siliziumoberflächen

Materialien

Silizium und Siliziumoxid

Silizium (Si) ist das 14. Element im Periodensystem der Elemente. Es kristallisiert in einer Diamantstruktur und ist mit einem Elastizitätsmodul von 130-188 GPa¹⁴⁵ vergleichsweise hart. In der Natur kommen Silizium-Verbindungen häufig in Gestein wie zum Beispiel Ton, Schiefer, Glimmer und Sandstein vor. Reines Silizium oxidiert in Verbindung mit Sauerstoff sehr schnell zu Siliziumoxid (SiO₂). Kristallines Silizium wird wegen seiner Halbleitereigenschaften in der Elektroindustrie als Substrat für integrierte Schaltkreise in einer Vielzahl von mikroelektronischen Anwendungen verwendet.

Silizium wird außerdem häufig eingesetzt, um miniaturisierte mechanische Elemente mit mikroskopischen Strukturen herzustellen. Dabei bietet Silizium die Möglichkeit, diese miniaturisierten Strukturen mit mikroelektronischen Elementen zu verbinden.¹⁴⁶ Beispiele für solche Anwendungen sind Druckköpfe von Tintenstrahldruckern,¹⁴⁷ mikroelektronische Lichtfaserbauteile¹⁴⁶ und Silizium-Federbalken in der Rasterkraftmikroskopie.^{22, 23} Silizium lässt sich des Weiteren über spezielle Verfahren zu extrem kleinen sphärischen Partikeln verarbeiten, die zum Beispiel in der Forschung^{148, 149} und in medizinischen Anwendungen¹⁵⁰ verwendet werden.

In der Silizium-Substrat-Herstellung werden gewöhnlich längliche Silizium-Kristalle gezüchtet, welche dann in runde Scheiben, sogenannte Silizium-Wafer, geschnitten werden. Die häufige Verwendung von Silizium in der Herstellung von technischen Produkten lässt sich dabei wie folgt begründen. Silizium kommt in der Umwelt häufig vor, ist preisgünstig und lässt sich industriell leicht in extrem reiner polykristalliner und einkristalliner Form herstellen. Außerdem ist über verschiedene lithographische Ätz- und Beschichtungsverfahren eine Herstellung von miniaturisierten Strukturen in industriellem Maßstab möglich.

Polystyrol

Polystyrol (PS) ist ein transparenter Kunststoff, der aus Styrol (Vinylbenzol) mittels Polymerisation gewonnen wird. Ebenso wie das im vorherigen Abschnitt beschriebene ePP ist auch Polystyrol ein thermoplastischer Kunststoff, der je nach Polymerisation in amorpher oder teilkristalliner Form vorkommt.

Die Repetiereinheit von PS besteht aus einem Benzolring und einer zwei Kohlenstoffatome langen Seitenkette. Während der Polymerisierung können sich je nach Ausrichtung der Seitengruppen relativ zur Molekül-Kette ataktische, isotaktische und syndiotaktische Ketten bilden.¹⁰⁹

Polystyrol lässt sich über die sogenannte Dispersions-Polymerisation zu sphärischen, mikroskopisch kleinen Partikeln mit definierter Größe verarbeiten.¹¹⁰ Im Rahmen dieser Arbeit wurden Polystyrol-Partikel mit 2-6 µm Durchmesser benutzt, um adhäsive Mechanismen auf verschiedenen Oberflächen zu untersuchen.

Methoden

Vorbereitung der Adhäsions- und Reibungskraft-Messungen

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Silizium-Wafern handelte es sich um rückseitig polierte (*engl. backside polished*), p-dotierte Wafer mit einem Durchmesser von 300 mm und einer Dicke von $775\text{ }\mu\text{m} \pm 25\text{ }\mu\text{m}$. Die Wafer wurden von der Firma WaferNet Inc. (San Jose, CA, USA) in der Güteklasse „*Particle Monitor*“ bezogen. Bei Wafern dieser Güteklasse garantiert der Hersteller eine sehr hohe Oberflächenreinheit. Da reine Siliziumoberflächen innerhalb kürzester Zeit oxidieren, wurden die Wafer für Messungen an chemisch reinem Silizium direkt vor der Messung mit dem in Abschnitt 4.2 beschriebenen Verfahren geätzt, um die SiO_2 -Schicht von der Oberfläche zu entfernen.

Die für Oberflächenreibungsexperimente und zur Vermessung von Adhäsionskräften verwendeten sphärischen Siliziumoxid-Partikel wurden von der Firma Bangs Inc. (Carmel, California, USA) bezogen und wie in folgenden Abschnitt beschrieben mit Epoxy-Klebstoff auf den AFM-Federbalken befestigt.¹⁴⁹

Die Siliziumproben wurden für die Charakterisierung des nanomechanischen Adhäsionsverhaltens sowie für die Reibungskraft-Messungen in Rechtecke mit 1cm Seitenlänge geschnitten. Zum Entfernen von leicht zu entfernenden Verunreinigungen und Siliziumrückständen, die vom Zuschneiden auf dem Wafer zurückblieben, wurden die Proben gründlich mit Stickstoff abgeblasen.

Herstellung von chemisch reinen Siliziumoberflächen

Um chemisch reine Siliziumoberflächen herzustellen, wurden die Silizium-Scheiben mit einem Diamantschneider in 1 cm^2 große rechteckige Plättchen geschnitten und für 60 s in Flusssäure (HF, 1 %) getaucht. Da sich innerhalb kurzer Zeit wieder Siliziumoxid an der Oberfläche bildet, war es wichtig, die Proben direkt nach dem Ätzen zu vermessen.

Herstellung von kolloidalen Sensoren

Für die Adhäsions- und Reibungskraftmessungen wurden spezielle Federbalken mit wohldefinierten sphärischen Messsonden aus Siliziumoxid (SiO_2) und Polystyrol hergestellt. Die bei der Herstellung eingesetzten sphärischen SiO_2 -Partikel sowie die Polystyrol-Kugeln wurden jeweils mit 2 bzw. $6\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser bei Bangs Inc. (IN, USA) bezogen. Mit Hilfe von Dr. rer. nat. Lars-Oliver Heim wurden nach dem von Heim et al.¹⁴⁹ beschriebenen Verfahren, die verschiedenen Partikel auf Federbalken vom Typ „*tipless-cantilever*“ (NanoAndMore GMBH, Wetzlar Deutschland) geklebt. Dabei wurde ein Epikote-Klebstoff vom Typ „*epoxy heat resin*“ (siehe Tabelle 3.1) verwendet.

Anschließend wurde, wie in Abbildung A gezeigt ist, die korrekte Positionierung der sphärischen Partikel an der Spitze des Federbalkens durch Messungen mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) (*engl. scanning electron microscope (SEM)*) überprüft.

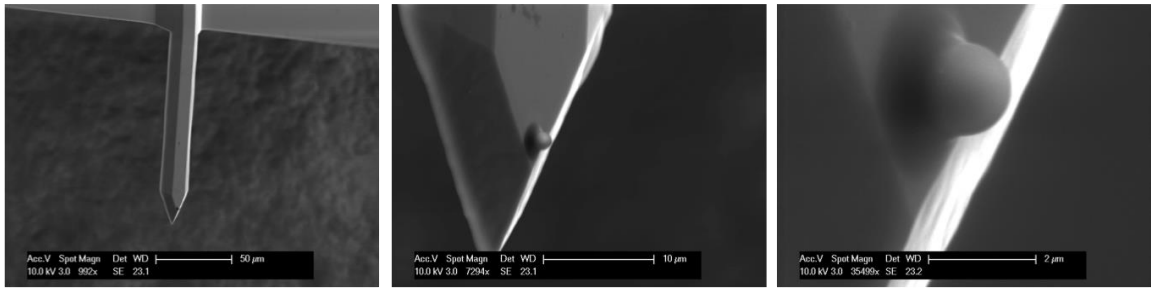


Abbildung A: REM-Aufnahmen einer präparierten Messsonde mit einem sphärischen Siliziumpartikel.

Charakterisierung von Siliziumoberflächen

Die Siliziumoberflächen wurden durch verschiedene Messmethoden mit zwei verschiedenen Rasterkraftmikroskopen vom Typ Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) und vom Typ Cypher (Asylum Research, Santa Barbara, USA) hinsichtlich verschiedener Oberflächeneigenschaften charakterisiert. Dabei wurden alle im Folgenden beschriebenen Experimente auf zwei unterschiedlich vorbereiteten Siliziumoberflächen durchgeführt. Zum einen wurde auf chemisch reinen Siliziumoberflächen gemessen, die unmittelbar vor der Messung mit dem Ätzverfahren behandelt wurden. Zum anderen wurde auf Siliziumoxid-Oberflächen gemessen, die von der Firma WaferNet Inc. (San Jose, USA) bezogen wurden.

Zur Analyse der Oberflächenrauigkeit wurden Topographiemessungen der Siliziumoberflächen mit dem Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) Rasterkraftmikroskop und einem ZEHR-Federbalken (siehe Tabelle 3.2) im *Tapping*-Modus an der Luft durchgeführt. Da die Rauigkeit der Messspitze bei den im Folgenden beschriebenen Adhäsions- und Reibungskraft-Messungen eine Rolle spielt, wurde auch die Rauigkeit der sphärischen Messspitzen ermittelt. Dazu wurde dieser Federbalken mit seiner Tastspitze nach oben gerichtet auf dem Probenhalter befestigt und mit der scharfen Messspitze vermessen. Der experimentelle Aufbau sowie die erhaltenen Topographien sind in Abbildung B gezeigt. Abbildung B (a) zeigt die Ausrichtung des Federbalkens über dem Federbalken mit der sphärischen Messspitze, durch das Lichtmikroskop des Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) Rasterkraftmikroskops betrachtet. In Abbildung B (b) ist eine Übersichtsaufnahme der Federbalkentopographie gezeigt. Abbildung B (c) zeigt eine hochaufgelöste Messung der sphärischen Messsonde. Die Rauigkeit der Messspitze wurde dabei auf der Basis der in dem roten Rechteck enthaltenen Topographiedaten berechnet.

Die Messungen zur Bestimmung der Reibungskoeffizienten und die Adhäsionsmessungen wurden in flüssigem Medium bei drei verschiedenen pH-Werten aufgenommen. Hierbei wurde, um pH 2.0 zu erhalten, Salzsäure (HCl) mit ultrareinem deionisierten Wasser (Milli-Q-Wasser) gemischt, und der korrekte Säuregehalt über ein pH-Meter kontrolliert. Als pH 5.4-Lösung wurde reines Milli-Q-Wasser benutzt und pH 9.0 wurde durch die Mischung mit Ammoniumhydroxid (NH_4OH) eingestellt.

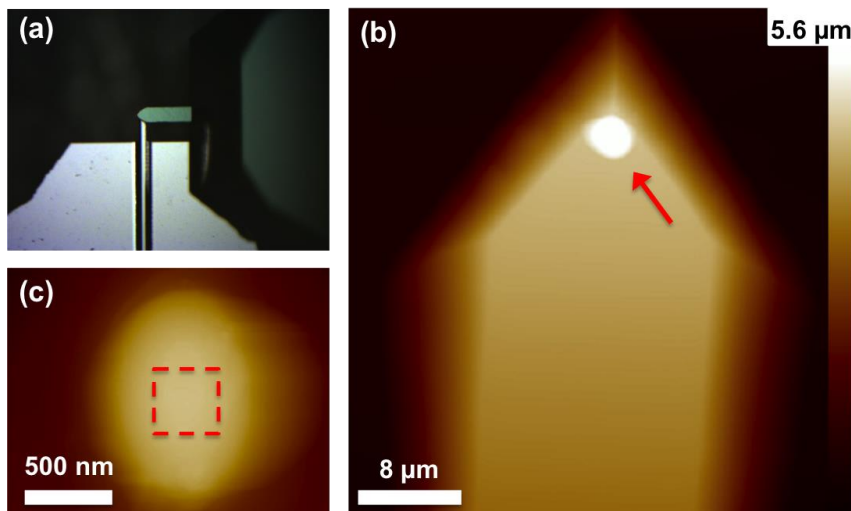


Abbildung B: Rauigkeitsuntersuchung auf der sphärischen Messspitze, mit der im Folgenden die Adhäsionskraft- und die Reibungskraft-Messungen durchgeführt wurden. (a) zeigt die Ansicht durch das Lichtmikroskop des Dimension Icon-Rasterkraftmikroskops. Man erkennt deutlich, wie der Messfederbalken über dem zu vermessenden Federbalken ausgerichtet ist. (b) Übersichtsaufnahme der Topographie des Federbalkens mit der sphärischen Messsonde. (c) Vergrößerte Aufnahme der Messspitze. Das rote Quadrat markiert den Bereich, in dem die Daten für die Rauigkeitsanalyse entnommen wurden.

Da bei der Herstellung der sphärischen Messsonde zwei verschiedene Materialien (Siliziumoxid und Polystyrol) verwendet wurden, ergaben sich für die Adhäsionsuntersuchungen die folgenden in Tabelle A zusammengefassten Materialkombinationen, bzw. Grenzflächen.

Messspitzenmaterial	Probenoberfläche
Siliziumoxid	Reines Silizium
Siliziumoxid	Siliziumoxid
Polystyrol	Reines Silizium
Polystyrol	Siliziumoxid

Tabelle A: In den Adhäsions- und Reibungskraft-Experimenten untersuchte Materialkombinationen

Dabei hatten die für die Adhäsionsmessungen genutzten kolloidalen Messsonden aus Siliziumoxid einen Durchmesser von $6.6\ \mu\text{m}$ und die als kolloidale Messsonden genutzten Polystyrol-Partikel hatten einen Durchmesser von $6.0\ \mu\text{m}$. Die Federkonstante der verwendeten Federbalken betrug $k = 0.2\ \text{N/m}$. Jeweils vor den Adhäsionsmessungen wurde die Federkonstante nach der von Sader et al.⁶⁶ beschreibenden Methode ermittelt.

In den Reibungskraftexperimenten wurden ebenfalls die in Tabelle A aufgelisteten Materialkombinationen untersucht. Die nach dem im vorherigen Abschnitt beschriebenen Verfahren hergestellten Federbalken hatten ebenfalls die Federkonstante $k = 0.2\ \text{N/m}$. Das als Messspitze verwendete Siliziumoxid-Partikel hatte einen Radius von $3.0\ \mu\text{m}$, und das Polystyrol-Partikel hatte einen Radius von $2.3\ \mu\text{m}$. Um valide quantitative Aussagen zu den beobachteten Reibungskräften machen zu können, wurde das Messsystem, wie in

Abschnitt 2.4.1 beschrieben, kalibriert. Für jede in Tabelle A aufgeführte Materialkombination wurden zwei Reibungsexperimente an verschiedenen Stellen der Probe durchgeführt.

Datenauswertung

Für die Charakterisierung der Adhäsionskräfte und für die Bestimmung der Oberflächenreibung zwischen den in Tabelle A aufgelisteten Materialkombinationen wurden für die verschiedenen pH-Werte die Daten verarbeitet und ausgewertet.

Die LFM-Messungen wurden in der Herstellersoftware NANOSCOPE (Bruker AXS, Deutschland) auf der Basis der in Abschnitt 2.4.1 beschriebenen Theorie ausgewertet.

Die statischen Kraft-Abstands-Kurven, die zur Bestimmung der Adhäsionskräfte zwischen den verschiedenen Materialien bei verschiedenen pH-Werten aufgenommen wurden, wurden mit der NANOSCOPE Software als .txt Dateien exportiert, um die Adhäsionskräfte mit MATLAB zu extrahieren.

Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der systematischen Untersuchungen von Adhäsions- und Reibungskräften zwischen den in Tabelle A aufgeführten Materialien beschrieben. Um die Abhängigkeit der beobachteten Kräfte vom pH-Wert des umgebenden fluiden Mediums quantifizieren zu können, wurde die Messungen in drei Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten aufgenommen.

RMS-Rauigkeit der Oberfläche und der sphärischen Messsonde

Für eine vollständige Charakterisierung des für die Reibungskraft- und Adhäsions-Messungen verwendeten Messsystems wurden zunächst die Rauigkeiten aller an den Messungen beteiligten Oberflächen ermittelt. Dieser Parameter ist für systematische Vergleiche von großer Bedeutung, da Adhäsionskräfte und Reibungseffekte sowohl von der Oberflächenrauigkeit der Probe als auch von der Rauigkeit der als kolloidale Messsonden benutzten Silizium- bzw. Polystyrol-Partikel abhängen. Die im Rahmen der Rauigkeit-Analyse entstandenen hochauflösenden Topographie-Aufnahmen sind in Abbildung C gezeigt. Die unterhalb der Topographiedaten gezeigten Höhenprofile wurden benutzt, um die *rms*-Rauigkeiten der jeweiligen Oberfläche zu berechnen. Auf den Probenoberflächen wurden, wie in Tabelle B zusammengefasst, *rms*-Rauigkeiten von 110 - 120 pm ermittelt, während auf den Si- bzw. PS-Messsonden Rauigkeiten von 5 nm bzw. 10 nm gemessen wurden. Diese Daten zeigen, dass die Rauigkeit der Oberflächen um mehrere Größenordnungen kleiner war als die der kolloidalen Messsonden. Das bedeutet, dass der systematische Einfluss der Rauigkeit der Probenoberfläche im Folgenden vernachlässigt werden kann. Wegen des relativ geringen Unterschiedes der Oberflächenrauigkeit beider Messsonden ist es möglich, die quantitativen Ergebnisse der im Folgenden beschriebenen Messungen miteinander zu vergleichen.

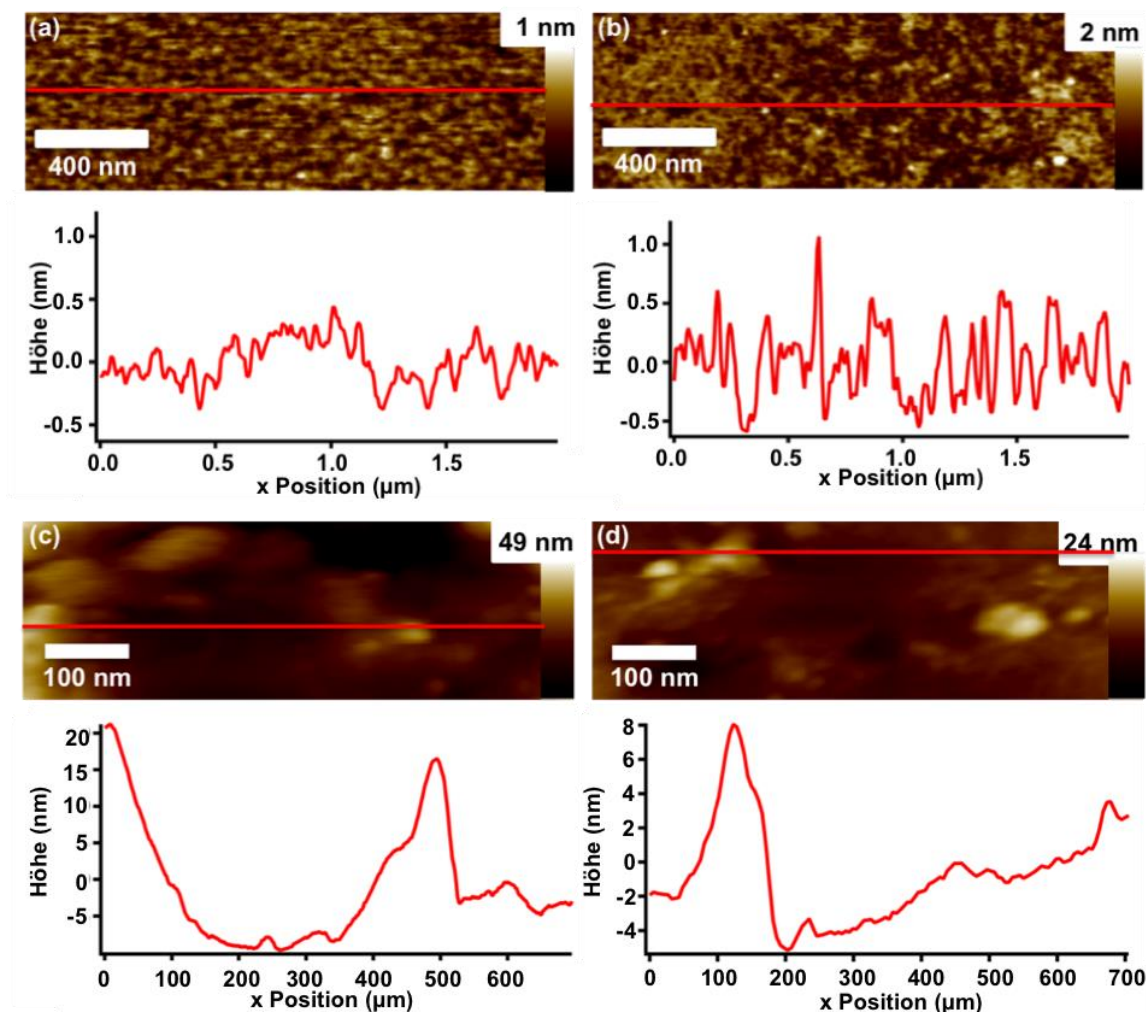


Abbildung C: Hochauflösende topographische Aufnahmen der an den Experimenten beteiligten Oberflächen zur Bestimmung der rms-Rauigkeit. In (a) ist die Topographie-Aufnahme einer Si-Oberfläche gezeigt, (b) zeigt die Topographie einer SiO₂-Oberfläche. Die zwei Diagramme unterhalb von (a) und (b) zeigen Höhenprofile, welche jeweils entlang der roten Linien extrahiert wurden. (c) und (d) zeigen hochauflösende Topographie-Daten, die auf der Spitze der am Federbalken befestigten SiO₂- bzw. PS-Messsonden aufgenommen wurden. Die Höhenprofile, die unter diesen Topographien abgebildet sind, wurden entlang der roten Linien in (c) und (d) extrahiert.

	Proben-Oberfläche	Messsonde
Si	110 pm	-
SiO ₂	120 pm	10 nm
PS	-	5 nm

Tabelle B: Zusammenfassung der Oberflächenrauigkeiten der verschiedenen an den Messungen beteiligten Materialien. Die rms-Rauigkeiten der kolloidalen Messsonden liegen um mehrere Größenordnungen über den Rauigkeiten der Probenoberfläche.

Bestimmung des Kontaktwinkels

Ein weiterer Parameter, der die Oberflächenreibung und die Adhäsionskräfte in fluidem Medium beeinflusst, ist die Oberflächenenergie und die damit verbundene Hydrophilie bzw. Hydrophobizität der Oberflächen.^{151, 152} Aus diesem Grund wurden für die drei untersuchten Materialien Messungen mit einem Kontaktwinkelmessgerät vom Typ DSA10 (Krüss GmbH, Hamburg, Deutschland) durchgeführt. Dabei wurde deionisiertes Wasser (Milli-Q-Wasser) (pH 5.4) verwendet. In diesem Zusammenhang zeigt Abbildung D eine lichtmikroskopische Aufnahme, die während der Kontaktwinkelmessungen auf einer Polystyrol-Oberfläche entstanden ist.

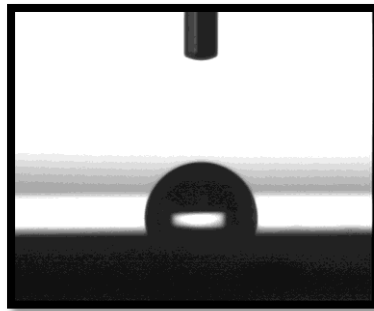


Abbildung D: Lichtmikroskopische Aufnahme aus der Kontaktwinkelmessung mit deionisiertem Wasser (pH 5.4) auf einer Polystyrol-Oberfläche.

Die in Tabelle C zusammengefassten Kontaktwinkel zeigen deutliche Unterschiede der Benetzbarkeiten der SiO₂-Oberfläche und der sauerstofffreien Si-Oberfläche. Die nicht oxidierte Siliziumoberfläche zeigt in diesen Messungen mit einem Kontaktwinkel von $(61.6 \pm 5.9)^\circ$ ein leicht hydrophobes Verhalten, während die SiO₂-Oberfläche mit $(33.3 \pm 2.5)^\circ$ vergleichsweise hydrophil erscheint. Auf der PS-Oberfläche wurde bei der Kontaktwinkelmessung ein Kontaktwinkel von etwa $(103 \pm 3.5)^\circ$ und somit ein hydrophobes Verhalten beobachtet.

	Kontaktwinkel θ (°) von reinem deionisiertem Wasser (Milli-Q-Wasser)
Si	61.6 ± 5.9 (leicht hydrophob)
SiO ₂	33.3 ± 2.5 (hydrophil)
PS	103.5 ± 3.5 (hydrophob)

Tabelle C: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessung auf den untersuchten Oberflächenmaterialien.

Oberflächenadhäsion

Alle Adhäsionsmessungen wurden im Kontaktmodus mit einem Rasterkraftmikroskop vom Typ Dimension Icon (Bruker AXS, Santa Barbara, USA) durchgeführt. In diesem Zusammenhang wurden die im Methodenteil des Anhangs beschreibenden Federbalken mit kolloidalen Messsonden aus Polystyrol und Siliziumoxid verwendet. Dabei wurden

Kraft-Abstands-Kurven von den Probenoberflächen aus Silizium und Siliziumoxid in einem flüssigen Medium für verschiedene pH-Werte aufgenommen.

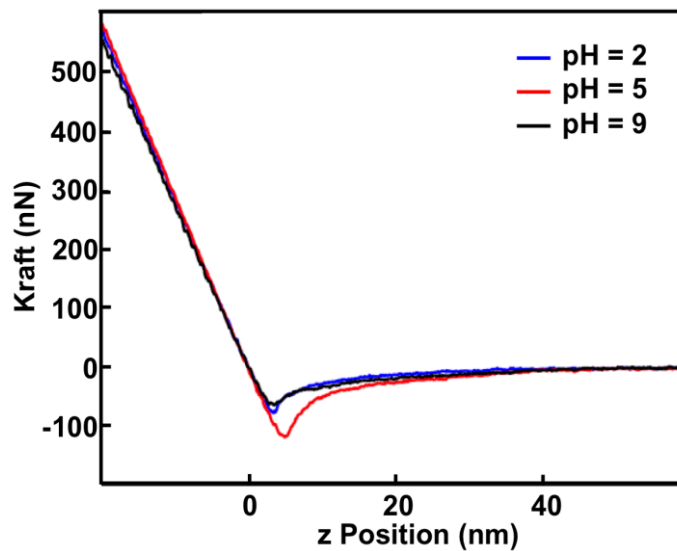


Abbildung E: Kraft-Abstands-Kurve von einer Polystyrol-Messsonde auf einer SiO_2 -Oberfläche für drei verschiedene pH-Werte.

Abbildung E zeigt exemplarisch den Verlauf von drei Kraft-Abstands-Kurven, die mit einer Polystyrol-Messsonde auf einer Siliziumoberfläche aufgenommen wurden. Es wurden Lösungen mit pH-Wert 2.0, 5.4 und 9.0 verwendet (siehe Abschnitt 4.1). Die Adhäsionskraft kann aus diesen Kurven, wie in Abschnitt 2.3 im Detail beschrieben, aus der Differenz des Kurven-Minimums und der Nulllinie (*engl. zero force line*) bestimmt werden. In Abbildung E ist zu erkennen, dass die Adhäsionskraft für die Silizium-Polystyrol-Grenzschicht bei pH 5.4 (rote Linie) deutlich stärker ist als bei pH 2.0 (blau) und pH 9.0 (schwarz).

Für die systematische Auswertung der Adhäsionskraft wurden jeweils 20 Kraft-Abstands-Kurven an verschiedenen Stellen für jede in Tabelle A aufgeführte Materialkombination und bei den verschiedenen pH-Werten aufgenommen. Um quantitative Vergleiche der aufgenommenen Adhäsionswerte mit Ergebnissen aus anderen Studien zu vereinfachen, wurden die gemittelten Adhäsionswerte durch den Radius der jeweiligen Messsonde geteilt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind im Diagramm in Abbildung F graphisch dargestellt und in Tabelle D zusammengefasst. Dabei wurden keine Daten für Silizium bei pH 9.0 gemessen, da die schnelle Reoxidation der Si-Oberfläche bei pH 9.0 zu einer Rückbildung von SiO_2 an der Probenoberfläche führt. Bei den pH-Werten 2.0 und 5.4 fällt auf, dass Adhäsionskräfte an den PS-Si- und PS- SiO_2 -Grenzflächen um mehr als eine Größenordnung stärker sind als an den Grenzflächen zwischen Oberflächen aus Silizium und Siliziumoxid (SiO_2 -Si und SiO_2 - SiO_2).

Im Mittel über alle pH-Werte wurden die schwächsten Adhäsionskräfte auf Probenoberflächen aus hydrophilem SiO_2 und nur leicht hydrophobem reinem Si beobachtet. Im Gegensatz dazu konnten bei Adhäsionsexperimenten mit stark hydrophoben kolloidalen Polystyrol-Messsonden im Mittel über alle pH-Werte deutlich stärkere Oberflächenadhäsionen gemessen werden. Dabei ist die Adhäsionskraft zwischen dem hydrophilen SiO_2

und dem hydrophoben PS deutlich kleiner als die Adhäsionskraft zwischen hydrophobem Si und PS.

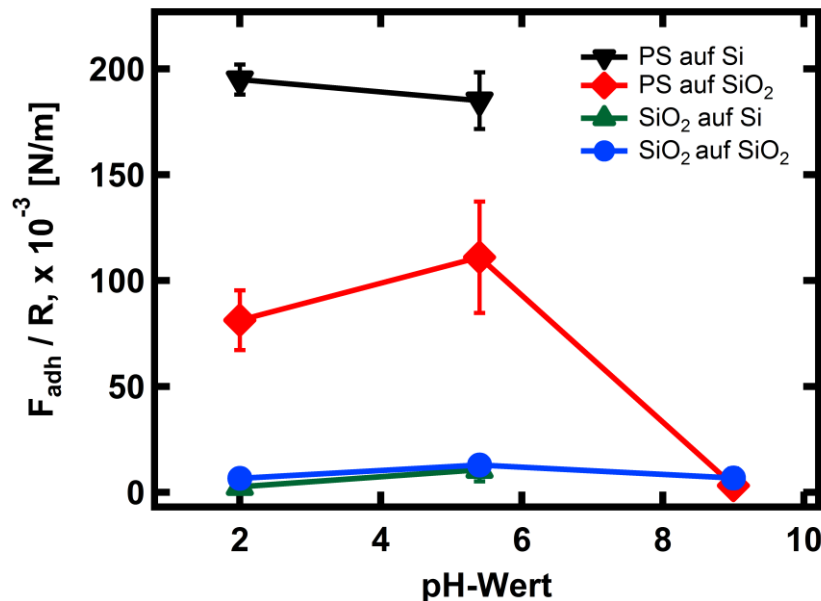


Abbildung F: Zwischen den verschiedenen Materialkombinationen auftretende Adhäsionskräfte als Funktion des pH-Wertes des umgebenden Mediums. Die Kräfte wurden für quantitative Vergleiche mit dem jeweiligen Messsonden-Radius normiert. Dabei konnten wegen der schnellen Reoxidation im fluiden Medium mit pH 9.0 keine Daten für Materialkombinationen mit reinem Silizium aufgenommen werden.

Die Adhäsionskräfte, die während den Messungen in saurer Lösung bei pH 2.0 für die SiO₂-Si-Grenzfläche und die SiO₂-SiO₂-Grenzfläche gemessen wurden, unterscheiden sich mit Werten von $(6.6 \pm 2.83) \times 10^{-3}$ N/m bzw. $(2.67 \pm 0.83) \times 10^{-3}$ N/m nur leicht. Für die Oberflächenkombination aus PS und SiO₂ wurde bei diesem pH-Wert mit $(81.30 \pm 14.1) \times 10^{-3}$ N/m eine deutlich höhere Adhäsionskraft gemessen. Die stärkste Adhäsion zeigte sich in den Messungen bei pH 2.0 für die PS-Si-Grenzschicht. Hier wurde für die Adhäsionskraft ein Wert von $(195.00 \pm 7.07) \times 10^{-3}$ N/m gemessen. Beim Wechsel der Lösung mit pH 2.0 auf die Lösung mit pH 5.4 war für alle Oberflächenkombinationen außer für PS-Si eine leichte Erhöhung zu beobachten (siehe Tabelle D). Dabei erhöhte sich die Adhäsionskraft für die SiO₂-Si Grenzfläche etwa um das 4-fache, bei SiO₂-SiO₂ verdoppelte sich die Kraft und für PS-SiO₂ stieg sie um mehr als 35 % an. Für PS-Si wurde ein leichter Abfall der Adhäsionskraft von etwa 5% beobachtet. Bei pH 9.0 sank die Adhäsionskraft zwischen PS und SiO₂ deutlich auf etwa 3 % des Wertes bei pH 5.4. Die Adhäsionskraft an der SiO₂-SiO₂-Grenzschicht bei pH 9.0 sank auf die Hälfte des Wertes bei pH 5.4.

Quantitativ stimmen die für die SiO₂-SiO₂-Grenzschicht bei pH 2.0 und pH 9.0 gemessenen normierten Adhäsionskräfte innerhalb des Messfehlers mit den von Bowen et al.¹⁶ bei pH 3 und pH 8 gemessenen Werten überein. Für eine genauere Beschreibung der in der Adhäsionsmessung beobachteten Effekte müssen mehrere Kräfte berücksichtigt werden, die sich gegenseitig überlagern.

$F_{adh}/R, 10^{-3}$ [N/m]	SiO ₂ auf Si	SiO ₂ auf SiO ₂	PS auf Si	PS auf SiO ₂
pH 2.0	2.67 ± 0.83	6.60 ± 2.83	195.00 ± 7.07	81.30 ± 14.1
pH 5.4	10.70 ± 5.53	12.90 ± 2.37	185.00 ± 13.40	111.00 ± 26.30
pH 9.0		6.76 ± 4.57		3.17 ± 1.07

Tabelle D: Übersicht der mit dem Messsonden-Radius normierten Adhäsionskräfte für die verschiedenen Materialkombinationen und pH-Werte.

Einen wesentlichen Einfluss hat in diesem Zusammenhang die hydrophobische Anziehung (*engl. hydrophobic attraction*). Dies gilt insbesondere, wenn beide an der Messung beteiligten Oberflächen hydrophob sind. Für verschiedene pH-Werte müssen außerdem die Oberflächenladungen beider Grenzschichten und die damit entstehenden elektrostatischen Kräfte berücksichtigt werden, welche zusätzlich zur pH-unabhängigen Van-der-Waals-Kraft wirken.^{151, 153} Die beobachtete Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der Hydrophobizität der an der Wechselwirkung beteiligten Grenzflächen sowie die für die verschiedenen Kontaktwinkel gemessenen Adhäsionskräfte stimmen mit den von Freitas et al.¹⁵¹ publizierten Ergebnissen überein. In dieser Studie wurden für zwei hydrophobe Oberflächen mit einem Kontaktwinkel von 105° bei pH 6.0 mittlere mit dem Radius normierte Adhäsionskräfte von 180 mN/m beobachtet. Dieser Wert stimmt innerhalb des Messfehlers mit der in dieser Arbeit gemessenen Adhäsionskraft für die hydrophobe Materialkombination PS-Si überein. Ein quantitativer Vergleich der für hydrophob-hydrophile und hydrophil-hydrophile Grenzflächen aufgenommenen Adhäsionskräfte aus Freitas et al.¹⁵¹ mit den hier gemessenen Werten ist leider wegen der großen Unterschiede der Kontaktwinkel nicht möglich. Qualitativ ist aber auch in diesem Fall eine gute Übereinstimmung zu erkennen.

Die in Abbildung F dargestellten Ergebnisse zeigen eine stärkere pH-Wert-Abhängigkeit der Adhäsionskraft zwischen hydrophoben Grenzflächen als zwischen hydrophilen, insbesondere für hohe pH-Werte. Der starke Abfall der Adhäsionskraft an der Si-PS-Grenzschicht für pH 9.0 bestätigt den von Freitas et al.¹⁵¹ beschriebenen stärkeren pH-Wert-Einfluss auf die Adhäsionskraft zwischen zwei hydrophoben Grenzflächen durch eine ausgeprägte abstoßende Doppelschicht. Abstoßende Doppelschichten spielen zwar auch bei der Kraftbilanz hydrophiler Oberflächen eine Rolle. In diesem Fall ist allerdings die Größe des abstoßenden elektrostatischen Potentials (*engl. electrostatic repulsion barrier*) deutlich kleiner.¹⁵¹ Ähnlich große Oberflächenpotentiale wurden auch in anderen Studien für Wechselwirkungen zwischen verschiedenen hydrophoben Oberflächen beobachtet.^{154, 155}

Um einen Einfluss der Verweildauer der kolloidalen Messsonde auf der Oberfläche auf die Adhäsionskraft auszuschließen, wurden zusätzliche Haltezeit-Experimente (*engl. dwell-time experiments*) durchgeführt. In diesen Experimenten wurde die kolloidale Messsonde für verschieden lange Zeiträume mit konstanter Kraft auf die Proben-Oberfläche gedrückt und die Adhäsionskraft aus den auf diese Weise gewonnenen Kraft-

Abstands-Kurven ermittelt. In Abbildung G sind die Ergebnisse der Haltezeit-Experimente für die pH-Werte 2.0 (blau), 5.4 (rote) und 9.0 (schwarz) dargestellt. Abbildung G (a) zeigt dabei die Adhäsionskräfte als Funktion der Wechselwirkungszeit zwischen zwei SiO_2 -Oberflächen, und Abbildung G (b) für die PS- SiO_2 -Oberflächenkombination. Wegen der schnellen Reoxidation der reinen Si-Oberfläche konnten keine Haltezeit-Experimente auf reinem Si durchgeführt werden.

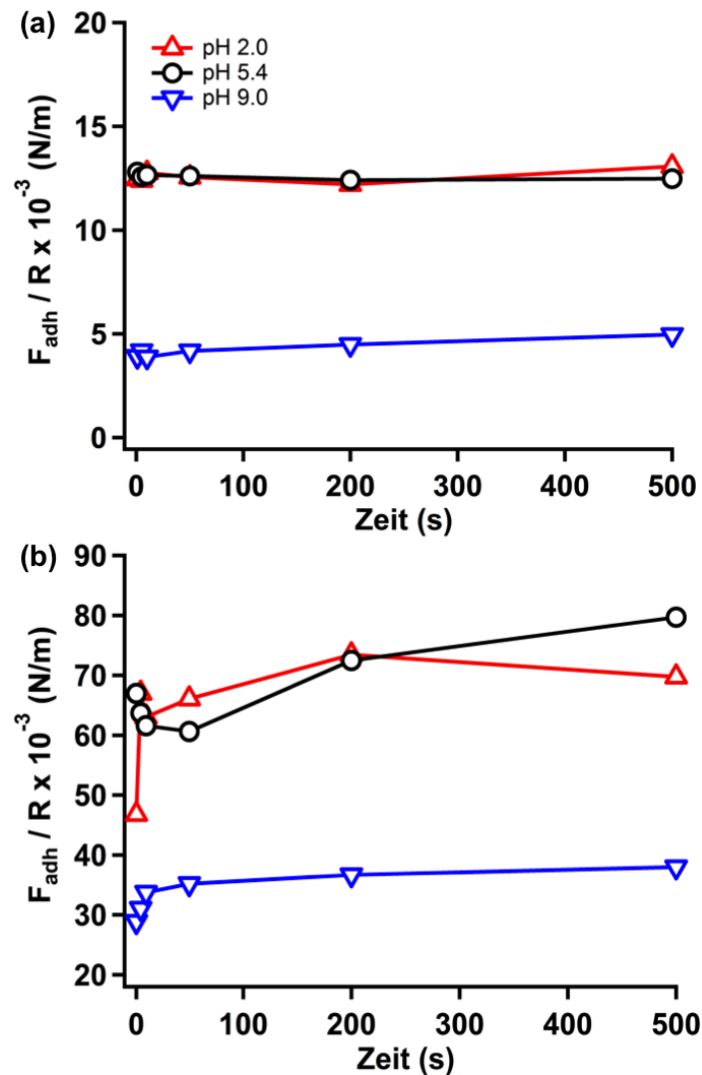


Abbildung G: Haltezeit-Experimente für (a) SiO_2 auf SiO_2 und (b) PS auf SiO_2 für verschiedene pH-Werte pH 2.0 (blau), pH 5.4 (rot) und pH 9.0 (schwarz).

Die in Abbildung G (a) dargestellten Adhäsionskräfte der SiO_2 - SiO_2 -Grenzschicht sind für alle beobachteten Haltezeiten konstant. Die Werte für pH 5.4 und pH 9.0 stimmen dabei innerhalb der beobachteten Schwankung mit den ermittelten Werten in Tabelle D überein. Die für den pH-Wert 2.0 beobachteten Adhäsionskräfte liegen etwas oberhalb des entsprechenden Wertes in Tabelle D. Dies liegt mit großer Wahrscheinlichkeit daran, dass es sich bei den Haltezeit-Experimenten um Einzelmessungen handelt, die an einer einzigen Stelle auf der Probenoberfläche aufgenommen wurden. Dadurch können lokale Inhomogenitäten der Probenoberfläche systematische Abweichungen verursachen.

Die Adhäsionskräfte aus den Haltezeit-Experimenten zwischen SiO_2 und PS weisen eine deutlich höhere Schwankung in Bezug auf die Haltezeit, besonders für kurze Haltezeiten unter 20 s, auf. Auch bei längeren Haltezeiten ist eine Veränderung der Adhäsionskräfte zu beobachten. Eine weitere Auffälligkeit ist die vergleichsweise große Abweichung der in den Haltezeit-Experimenten beobachteten Adhäsionskräfte von den statisch ermittelten Werten in Tabelle D. Während diese systematische Abweichung die Tatsache wieder spiegelt, dass es sich in den Haltezeit-Experimenten um Einzelmessungen handelt, kann die stärkere Schwankung der Adhäsionskräfte für diese Grenzflächenkombination durch die größere Varianz der Kraftmessungen erklärt werden (vergleiche Tabelle D).

Die Tatsache, dass sich die beobachteten Werte für lange Haltezeiten nicht signifikant verändern, zeigt, dass es, wenn überhaupt, nur eine geringe Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der Dauer des Kontaktes zwischen den in diesem Experiment beobachteten Grenzflächen gibt. Diese leichte Abhängigkeit könnte den schwachen Anstieg der Adhäsionskraft für lange Haltezeiten verursachen.

Zur Bestimmung der Abhängigkeit der Adhäsionskräfte von der Durchführ-Geschwindigkeit wurden Kraft-Abstands-Kurven mit verschiedenen Durchführ-Geschwindigkeiten aufgenommen. Exemplarisch wurde in diesen Messungen eine SiO_2 -Oberfläche mit einer kolloidalen Siliziumoxid-Messsonde bei pH 5.4 verwendet. Wie in Abbildung H gezeigt, ist für Durchführ-Geschwindigkeiten zwischen 10 nm/s und 600 nm/s keine systematische Veränderung der Adhäsionskraft zu erkennen. Auch eine Verdoppelung der Maximalkraft von 1 μN (Abbildung H (a)) auf 2 μN (Abbildung H (b)) führte zu keiner signifikanten Änderung der Kräfte. Diese Beobachtung deckt sich mit den von Bowen et al.¹⁶ veröffentlichten Ergebnissen. Die Autoren konnten für einen Kräftebereich zwischen 16 nN und 100 nN keine Abhängigkeit der Adhäsionskraft von der Maximalkraft beobachten.

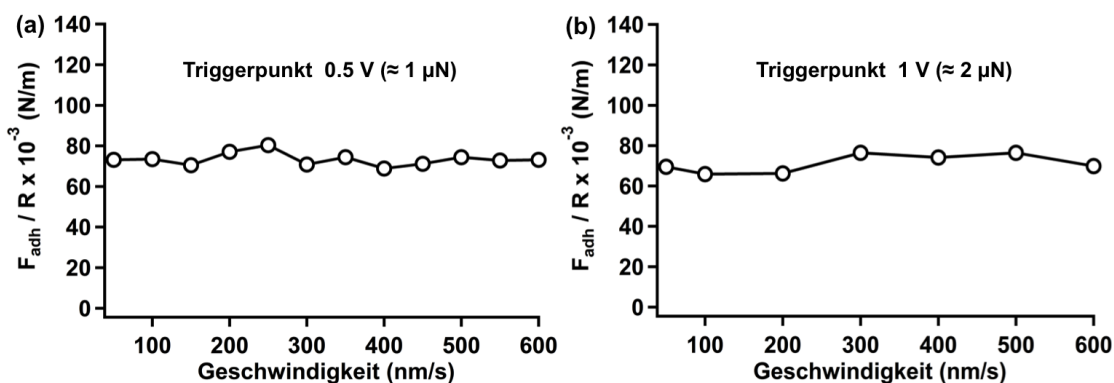


Abbildung H: Abhängigkeit der Adhäsionskraft zwischen einer Siliziumoxid-Oberfläche und einer kolloidalen SiO_2 -Messsonde von der Durchführ-Geschwindigkeit. Die Kraft-Abstands-Messungen wurden mit (a) 1 μN und (b) 2 μN Maximalkraft ermittelt. Beide Kurven wurden bei pH 5.4 aufgenommen.

Die absolute Größe der in dieser Messung beobachteten Kräfte liegt allerdings deutlich über den statisch ermittelten Werten in Tabelle D und ebenfalls über den von Bowen et al.¹⁶ beobachteten Kräften.

Oberflächenreibung bei verschiedenen pH-Werten

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Reibungskraft-Experimente waren auf einem vergleichsweise niedrigen Bereich der Normalkraft zwischen 50 nN und 150 nN fokussiert. Dabei wurden, wie im vorhergehenden Abschnitt, Oberflächenkombinationen aus SiO_2 , Si und PS in Lösungen mit den pH-Werten 2.0, 5.4 und 9.0 untersucht. Um den Einfluss lokaler Inhomogenitäten auf der Probenoberfläche zu reduzieren, wurden die im Folgenden gezeigten Reibungswerte jeweils aus dem Mittelwert von zwei LFM-Messungen bestimmt, die an unterschiedlichen Positionen auf der Probenoberfläche aufgenommen wurden.

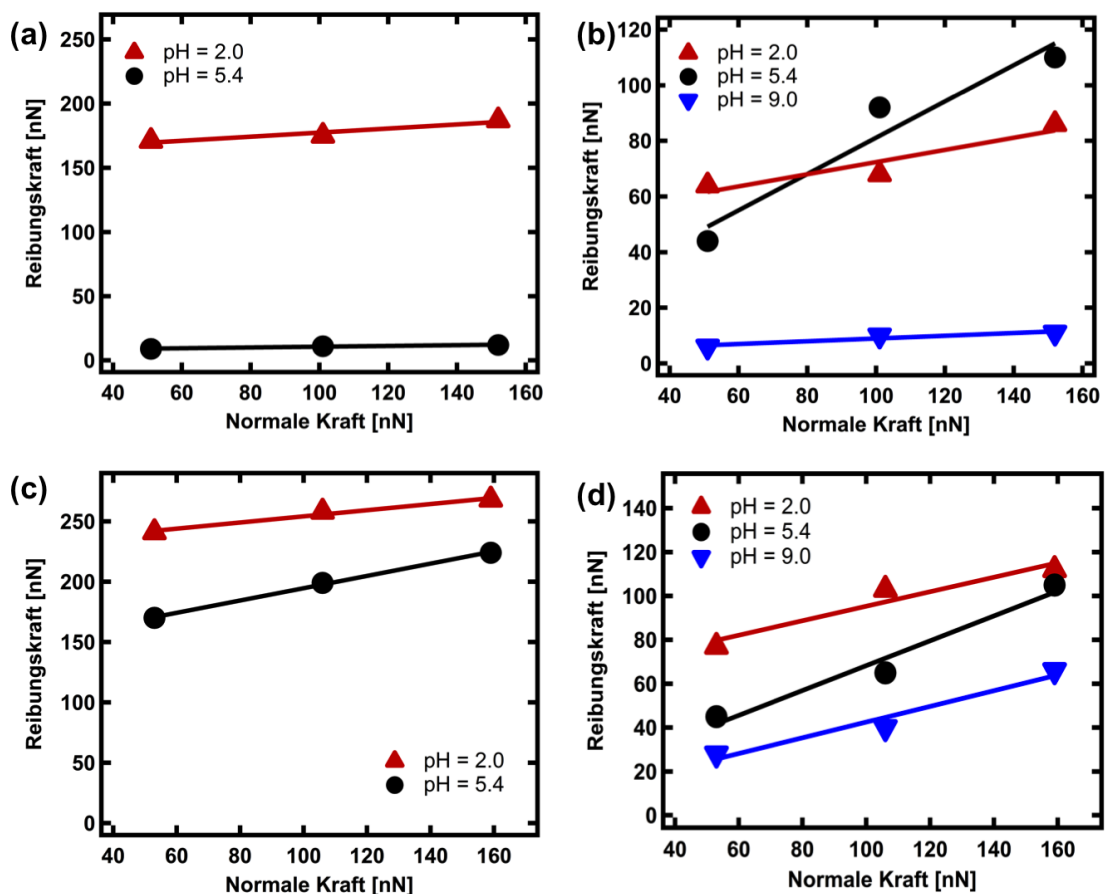


Abbildung I: LFM-Messung für verschiedene Grenzflächen: (a) SiO_2 auf Si (b) SiO_2 auf SiO_2 (c) PS auf Si und (d) PS auf SiO_2 . Alle Reibungskräfte sind als Funktion der Normalkraft dargestellt und wurden für die pH Werte 2.0 (rote Dreiecke), 5.4 (schwarze Kreise) und 9.0 (blaue Dreiecke) gemessen.

In Abbildung I sind die lateralen Kräfte aus den LFM-Messungen als Funktion der Normalkraft, mit der die kolloidale Messspitze auf die Probe gedrückt wurde, gezeigt. Jedes der vier Diagramme in dieser Abbildung zeigt den Verlauf der lateralen Kraft für eine der in Tabelle A aufgelisteten Materialkombinationen für verschiedene pH-Werte. Das Diagramm in (a) zeigt zwischen SiO_2 und Si aufgenommene Daten, (b) zeigt den Verlauf der Reibungskräfte zwischen zwei SiO_2 -Oberflächen, in (c) sind die lateralen Kräfte zwischen einer reinen Si und PS gezeigt und in (d) sind die Daten der PS- auf SiO_2 -Messung abgebildet. Dabei sind Messungen bei pH 2.0 durch rote Dreiecke gekennzeichnet, bei pH 5.4 aufgenommene Reibungskräfte werden durch gefüllte schwarze Kreise repräsen-

tiert und blaue Dreiecke stehen für laterale Kräfte, die bei pH 9.0 aufgenommen wurden. Wegen der schnellen Reoxidation der reinen Si-Oberflächen in basischer Umgebung sind in den Diagrammen für SiO₂ auf Si (a) und PS auf Si (c) keine Reibungskraftmessungen für pH 9.0 enthalten.

Die in Abbildung I gezeigten Verläufe der Reibungskraft als Funktion der Normalkraft spiegeln den im Theorieteil (Abschnitt 2.4.1) beschriebenen linearen Zusammenhang (2.48) wieder. Der Reibungskoeffizient μ_L für die laterale Bewegung der betrachteten Oberflächen gegeneinander wird in diesem Fall durch die Steigung der jeweiligen Kurve bestimmt. Die aus den in Abbildung I gezeigten Kraftverläufe extrahierten Reibungskoeffizienten sind als Funktion des pH-Wertes in Abbildung J dargestellt und in Tabelle E zusammengefasst.

Für alle vermessenen Oberflächenkombinationen kann eine pH-Abhängigkeit der Reibungskoeffizienten beobachtet werden. Dabei steigen die Reibungskoeffizienten der Messungen von PS auf Si, PS auf SiO₂ und SiO₂ auf SiO₂ beim Anstieg von pH 2.0 auf pH 5.4 deutlich an, während der Reibungskoeffizient von SiO₂ auf Si abnimmt. Für eine weitere Erhöhung des pH-Wertes von pH 5.4 auf pH 9.0 ist ein Rückgang der Oberflächenreibung für die Oberflächenkombinationen PS auf SiO₂ und SiO₂ auf SiO₂ zu beobachten.

Bis auf die Reibungskoeffizienten der SiO₂- auf Si-Messung existiert eine gute quantitative Übereinstimmung der in Abbildung J gezeigten Daten mit den von Tsukruk und Bliznyuk¹⁵⁶ zwischen zwei (Si₃N₄)-Oberflächen beobachteten pH-abhängigen Reibungskoeffizienten.

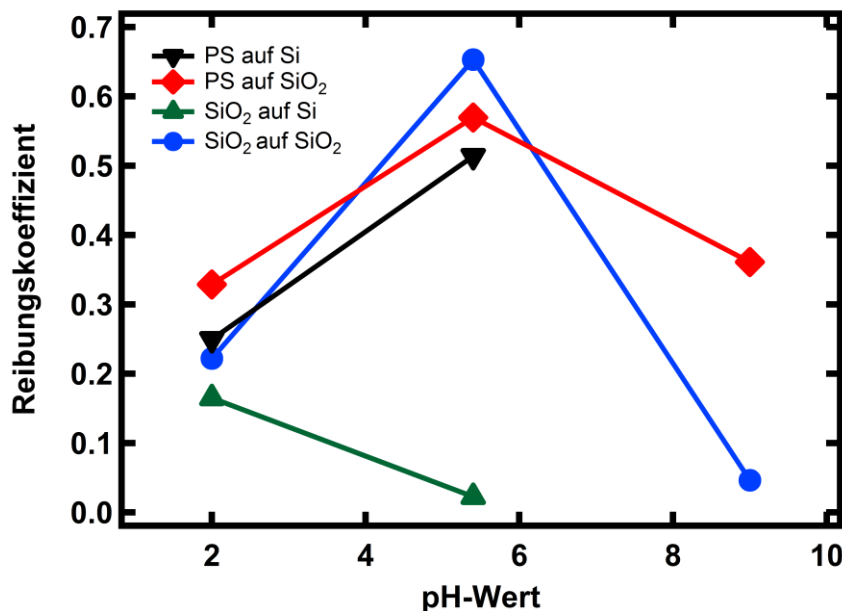


Abbildung J: Graphische Übersicht über Reibungskoeffizienten der verschiedenen Grenzflächen und ihre Abhängigkeit vom pH-Wert der umgebenden Lösung.

Der deutliche Abfall des Reibungskoeffizienten zwischen den zwei SiO₂-Grenzflächen für große pH-Werte wird außerdem in zwei Studien von Taran et al.^{157, 158} thematisiert. In diesen Studien wird ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen Normalkraft und Rei-

bungskraft für pH-Werte > 9.0 beschrieben. Dieser nichtlineare Effekt tritt allerdings erst bei Normalkräften > 200 nN auf und liegt deswegen außerhalb des in dieser Arbeit beobachteten Kräftebereiches. Für Kräfte < 200 nN liegen die von Taran et al. gemessenen Reibungskräfte bei pH 9.0 deutlich unter den bei pH 5.6 gemessenen Werten, was die in dieser Arbeit beobachtete pH-Abhängigkeit der Reibungskraft für große pH-Werte bestätigt.

Der deutliche Unterschied der Reibungskoeffizienten zwischen pH 2.0 und pH 5.4 deckt sich mit den Beobachtungen von Tsukruk und Bliznyuk¹⁵⁶, aber widerspricht den Schlussfolgerungen in der Studien von Taran et al.^{157, 158}, in denen keine pH-abhängige Reibungskraftänderung für diesen pH-Bereich beobachtet wurde. Die wahrscheinlichste Ursache für diese Diskrepanz ist der wesentlich größere Normalkraftbereich, für den die Reibungskräfte in den Studien von Taran et al.^{157, 158} aufgenommen wurden. Während im Rahmen dieser Arbeit ein Bereich zwischen 50 nN und 150 nN vermessen wurde, wurde für die Studien von Taran et al.^{157, 158} ein Normalkraftbereich zwischen 50 nN und 500 nN vermessen.

Allgemein bestätigt die in dieser Arbeit beobachtete pH-Abhängigkeit der Reibungskoeffizienten den erstmals von Marti et al.¹⁵⁹ beschriebenen Einfluss der pH-abhängigen Adhäsion auf die nanoskopischen Reibungskoeffizienten zwischen Oberflächen in flüssiger Umgebung. Nur der bei pH 5.4 aufgenommene Wert der SiO₂-Si-Grenzfläche steht in klarem Widerspruch dieser Theorie. Da in Voruntersuchungen für diese Materialkombination bei pH 5.4 abweichende Reibungskoeffizienten beobachtet wurden, muss davon ausgegangen werden, dass die bei diesem pH-Wert stattfindende kontinuierliche Oxidation der Si-Oberfläche in diesem Fall zu einer Verfälschung des Reibungskoeffizienten geführt hat.

	SiO ₂ auf Si	SiO ₂ auf SiO ₂	PS auf Si	PS auf SiO ₂
pH 2.0	0.17	0.22	0.23	0.33
pH 5.4	0.02	0.65	0.51	0.57
pH 9.0		0.05		0.36

Tabelle E: Übersicht über die aus den LFM-Messungen ermittelten Reibungskoeffizienten.

Zusammenfassung

Zur Untersuchung lateraler Effekte wurden außerdem LFM-Experimente in flüssiger Umgebung durchgeführt, um die pH-Wert-Abhängigkeit der Oberflächenreibung sowie der Adhäsionskraft zu ermitteln. Alle Ergebnisse, die im Rahmen dieser Arbeit aufgenommen wurden, wiesen eine gute Reproduzierbarkeit auf, was für eine hohe Zuverlässigkeit der verwendeten Messtechniken für die untersuchten Probenarten schließen lässt.

Vor Beginn der Adhäsions- und Reibungskraft-Charakterisierung der in dieser Arbeit untersuchten Siliziumoberflächen wurden alle an der Messung beteiligten Oberflächen topographisch vermessen, um systematische Abweichungen der aufgenommenen Kräfte

durch unterschiedliche Rauigkeiten der Messsonden und Oberflächen ausschließen zu können. In einer weiteren vorbereitenden Messung wurden mit deionisiertem Wasser (pH 5.4) Kontaktwinkelmessungen aufgenommen, um auf diese Weise Unterschiede der Hydrophilie bzw. Hydrophobizität zwischen den einzelnen Proben zu vermessen. Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessung zeigen deutliche Unterschiede der Hydrophobizität zwischen Si, SiO₂ und PS (vergleiche Tabelle C).

In den Ergebnissen der Adhäsionskraft-Messung für die verschiedenen Oberflächenkombinationen ist eine klare pH-Wert-Abhängigkeit zu beobachten. Die Stärke der beobachteten pH-Wert-Abhängigkeit hing von der Hydrophilie bzw. Hydrophobizität der an der Wechselwirkung beteiligten Oberflächenmaterialien ab. Die Abhängigkeit der Adhäsionskräfte von der Hydrophobizität beider Oberflächen lässt sich durch die hydrophobischen Anziehungskräfte erklären, und die diesbezüglich beobachteten Effekte stimmen im Wesentlichen mit den von Freitas et al.¹⁵¹ publizierten Ergebnissen überein.

Im Anschluss an diese Messung wurde eine Reihe von Adhäsionskraft-Messungen aufgenommen, um systematische Einflüsse verschiedener Messparameter ausschließen zu können. In diesen Untersuchungen zeigten, dass eine Variation der Verweildauer der Messsonde auf der Probenoberfläche keinen signifikanten Einfluss auf die beobachteten Adhäsionskräfte hat. In einer weiteren Messreihe wurden die Einflüsse der Aufnahmege-
schwindigkeit und der Maximalkraft, die für die Aufnahme der Kraft-Abstands-Kurven eingestellt wurden, untersucht. Auch in dieser Untersuchung konnten signifikante systematische Einflüsse ausgeschlossen werden.

Die Reibungskoeffizienten zwischen den verschiedenen Oberflächenkombinationen zeigen ebenfalls eine eindeutige pH-Abhängigkeit. Bis auf die Messung für SiO₂ auf Si konnte für alle Materialkombinationen ein Anstieg der Reibungskoeffizienten bei einer pH-Wert-Änderung von 2.0 auf 5.4 beobachtet werden, der sich mit den Beobachtungen aus früheren Studien deckt.¹⁵⁶ Auch der Rückgang der Reibungskoeffizienten beim Wechsel von pH 5.4 auf pH 9.0 entspricht dem in der Literatur beschriebenen Verhalten.^{157, 158} Das in den Messungen beobachtete abweichende Verhalten der (SiO₂ - Si)-Oberflächenkombination bei pH 5.4 lässt sich dadurch erklären, dass die Si-Oberfläche im Medium mit pH 5.4 vergleichsweise schnell oxidiert, was zu systematischen Fehlern bei der Messung der lateralen Kraft führen kann.

Für die Vermessung der Adhäsionskräfte und der Reibungskoeffizienten auf Silizium- und Siliziumoxid-Oberflächen wurden im Rahmen dieser Arbeit Kraft-Abstands-Kurven und Messungen im Querkraftmodus (*engl. lateral force mode*) in einem flüssigen Medium bei verschiedenen pH-Werten aufgenommen. Sowohl die Reibungskoeffizienten als auch die beobachteten Adhäsionskräfte zeigen eine eindeutige Abhängigkeit vom pH-Wert der umgebenden Lösung. Außerdem hängen beide Größen von der Hydrophobizität des Probenmaterials und des Materials der verwendeten Messsonde ab. Die in diesem Teil der Arbeit gewonnenen Erkenntnisse finden Verwendung in der Entwicklung neuartiger Reinigungsverfahren für industriell genutzte Siliziumoberflächen. Wie in diesem Abschnitt der Arbeit gezeigt wurde, stellt die hier beschriebene Technik ein valides Werkzeug für weitere Untersuchungen dieser Zusammenhänge dar. Hier wäre es in weiterführenden Experimenten möglich, den betrachteten pH-Bereich in kleineren Schritten

abzurastern und die auf diese Weise vermessenen Kraftkurven mit existierenden oberflächenphysikalischen Modellen abzugleichen.

Abkürzungsverzeichnis

AFM	Rasterkraftmikroskop (<i>engl. Atomic Force Microscope</i>)
aPP	ataktisches Polypropylen
MD	Maugis-Dugdale
DMT	Derjaguin-Müller-Toporov
EtOH	Ethanol
FD	Kraft-Abstands-Kurve (<i>engl. force distance</i>)
FFM	Reibungskraft-Mikroskopie (<i>engl. friction force microscopy</i>)
ePP	elastomeres Polypropylen
GRGDSP	<i>glycine-arginine-glycineaspartic-acid-serine-proline</i>
HCl	Salzsäure
HF	Flusssäure
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
Ig	Immunoglobulin
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
JKR	Johnson-Kendall-Roberts
iPP	Isotaktisches Polypropylen
KMnO ₄	Kaliumpermanganat
MaBP	Benzophenonmethacrylat
NH ₄ OH	Ammoniumhydroxid
PB	Polybutylene
PDMAA	Poly(N,N-dimethylacrylamid)
PE	Polyethylen
PP	Polypropylen
PSD	Positionssensitiver Detektor (<i>engl. position-sensitive detector</i>)
QNM	<i>Quantitative Nanomechanical Mapping</i>
Q-Faktor	Qualitätsfaktor

Abkürzungsverzeichnis

REM	Rasterelektronenmikroskop (<i>engl. scanning electron microscope</i>)
<i>rms</i>	mittlere quadratische Abweichung (<i>engl. root mean square</i>)
Si	Silizium
Si ₃ N ₄	Siliziumnitrid
SiO ₂	Siliziumoxid
sPP	syndioaktisches Polypropylen
Triethoxy-BP-Silan	(4-(3-(Triethoxysilyl)propoxy)phenyl)(phenyl)methanon)

Literaturverzeichnis

1. Binnig, G.; Quate, C. F.; Gerber, C., Atomic Force Microscope. *Phys. Rev. Lett.* 1986, 56 (9), 930-933.
2. Sugimoto, Y.; Pou, P.; Abe, M.; Jelinek, P.; Perez, R.; Morita, S.; Custance, O., Chemical Identification of Individual Surface Atoms by Atomic Force Microscopy. *Nature* 2007, 446 (7131), 64-67.
3. Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M., Polyvalent Interactions in Biological Systems: Implications for Design and Use of Multivalent Ligands and Inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37 (20), 2754-2794.
4. Saphire, E. O.; Stanfield, R. L.; Max Crispin, M. D.; Parren, P. W. H. I.; Rudd, P. M.; Dwek, R. A.; Burton, D. R.; Wilson, I. A., Contrasting IgG Structures Reveal Extreme Asymmetry and Flexibility. *J. Mol. Biol.* 2002, 319 (1), 9-18.
5. Sandin, S.; Öfverstedt, L.-G.; Wikström, A.-C.; Wrangé, Ö.; Skoglund, U., Structure and Flexibility of Individual Immunoglobulin G Molecules in Solution. *Structure* 2004, 12 (3), 409-415.
6. Pittenger, B.; Erina, N.; Chanmin, S., Quantitative Mechanical Mapping at Nanoscale with Peak Force QNM. *Bruker Application Note #128* 2009.
7. Feinstein, A.; Richardson, N.; Taussig, M. I., Immunoglobulin Flexibility in Complement Activation. *Immunol. Today* 1986, 7 (6), 169-174.
8. Michler, G. H., Microstructural Construction of Polymers with Improved Mechanical Properties. *Polym. Advan. Technol.* 1998, 9 (10-11), 812-822.
9. Hadjichristidis, N.; Pispas, S.; Floudas, G., *Block Copolymers: Synthetic Strategies, Physical Properties, and Applications*. Wiley. com: 2003.
10. Petersen, S. Bioactive Surface Coatings Based on Peptide-Polymer Micropatterns - Towards the Design of Cell-Biochips. TU Darmstadt, Uelvesbüll, 2011.
11. Petersen, S.; Biesalski, M., Microstructured Thin Peptide-Polymer Films that Spatially Control the Surface-Attachment of Living Cells. *Int. J. Artif. Organs.* 2011, 34 (2), 210-214.
12. Loschonsky, S.; Shroff, K.; Worz, A.; Prucker, O.; Ruhe, J.; Biesalski, M., Surface-Attached PDMAA-GRGDSP Hybrid Polymer Monolayers that Promote the Adhesion of Living Cells. *Biomacromolecules* 2008, 9, 543-552.
13. Petersen, S.; Loschonsky, S.; Prucker, O.; Ruhe, J.; Biesalski, M., Cell Micro-Arrays from Surface-Attached Peptide-Polymer Monolayers. *Phys. Status Solidi A* 2009, 206 (3), 468-473.
14. Schenderlein, H. Herstellung und Charakterisierung oberflächengebundener, lichtsichtbarer Polymernetzwerke. TU Darmstadt, Uelvesbüll, 2013.
15. Discher, D. E.; Janmey, P.; Wang, Y.-l., Tissue Cells Feel and Respond to the Stiffness of Their Substrate. *Science* 2005, 310 (5751), 1139-1143.
16. Bowen, W. R.; Hilal, N.; Lovitt, R. W.; Wright, C. J., An Atomic Force Microscopy Study of the Adhesion of a Silica Sphere to a Silica Surface—Effects of Surface Cleaning. *Colloid. Surface A* 1999, 157 (1), 117-125.
17. Donose, B. C.; Taran, E.; Vakarelski, I. U.; Shinto, H.; Higashitani, K., Effects of Cleaning Procedures of Silica Wafers on their Friction Characteristics. *J. Colloid. Interf. Sci.* 2006, 299 (1), 233-237.
18. Butt, H. J.; Cappella, B.; Kappl, M., Force Measurements with the Atomic Force Microscope: Technique, Interpretation and Applications. *Surf. Sci. Rep.* 2005, 59 (1-6), 1-152.
19. Bhushan, B., *Handbook of Nanotechnology*. Springer: 2010.
20. Meyer, E., Atomic Force Microscopy. *Prog. Surf. Sci.* 1992, 41 (1), 3-49.

21. Schmalz, G., Über Glätte und Ebenheit als physikalisches und physiologisches Problem. *Verein Deutscher Ingenieure* 1929, 1461-1467.
22. Ximen, H.; Russell, P. E., Microfabrication of AFM Tips Using Focused Ion and Electron Beam Techniques. *Ultramicroscopy* 1992, 42–44, Part 2, 1526-1532.
23. Albrecht, T. R.; Akamine, S.; Carver, T. E.; Quate, C. F., Microfabrication of Cantilever Styli for the Atomic Force Microscope. *J. Vac. Sci. Technol. A* 1990, 8 (4), 3386-3396.
24. Meschede, D., *Gerthsen Physik*. Springer: 2010.
25. Gilbert, T. L., Soft-Sphere Model for Closed-Shell Atoms and Ions. *J. Chem. Phys.* 1968, 49 (6), 2640-2642.
26. Israelachvili, J. N., *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press: 2011.
27. Lewis, G. N., The Atom and the Molecule. *J. Am. Chem. soc.* 1916, 38 (4), 762-785.
28. Demtröder, W., *Experimentalphysik 3: Atome, Moleküle und Festkörper*. Springer 2000.
29. Pérez, R.; Payne, M. C.; Štich, I.; Terakura, K., Role of Covalent Tip-Surface Interactions in Noncontact Atomic Force Microscopy on Reactive Surfaces. *Phys. Rev. Lett.* 1997, 78 (4), 678-681.
30. Giessibl, F. J., A Direct Method to Calculate Tip-Sample Forces from Frequency Shifts in Frequency-Modulation Atomic Force Microscopy. *Appl. Phys. Lett.* 2001, 78 (1), 123-125.
31. Dürig, U.; Gimzewski, J. K.; Pohl, D. W., Experimental Observation of Forces Acting during Scanning Tunneling Microscopy. *Phys. Rev. Lett.* 1986, 57 (19), 2403-2406.
32. Dürig, U.; Züger, O.; Pohl, D. W., Observation of Metallic Adhesion Using the Scanning Tunneling Microscope. *Phys. Rev. Lett.* 1990, 65 (3), 349-352.
33. Ferrante, J.; Smith, J. R., Theory of the Bimetallic Interface. *Phys. Rev. B* 1985, 31 (6), 3427-3434.
34. Meyer, E.; Hug, H. J.; Bennewitz, R., *Scanning Probe Microscopy: the Lab on a Tip*. Springer: 2004.
35. Sedin, D. L.; Rowlen, K. L., Adhesion Forces Measured by Atomic Force Microscopy in Humid Air. *Analytical Chem.* 2000, 72 (10), 2183-2189.
36. Weisenhorn, A. L.; Hansma, P. K.; Albrecht, T. R.; Quate, C. F., Forces in Atomic Force Microscopy in Air and Water. *Appl. Phys. Lett.* 1989, 54 (26), 2651-2653.
37. Malotky, D. L.; Chaudhury, M. K., Investigation of Capillary Forces Using Atomic Force Microscopy. *Langmuir* 2001, 17 (25), 7823-7829.
38. Mate, C. M.; Lorenz, M. R.; Novotny, V. J., Atomic Force Microscopy of Polymeric Liquid Films. *J. Chem. Phys.* 1989, 90 (12), 7550-7555.
39. Jang, J.; Schatz, G. C.; Ratner, M. A., Capillary Force on a Nanoscale Tip in Dip-Pen Nanolithography. *Phys. Rev. Lett.* 2003, 90 (15), 156104.
40. Giessibl, F. J., Advances in Atomic Force Microscopy. *Rev. Mod. Phys.* 2003, 75 (3), 949-983.
41. Hamaker, H. C., The London-van der Waals Attraction between Spherical Particles. *Physica* 1937, 4 (10), 1058-1072.
42. Snook, I. K.; van Megen, W., Solvation Forces in Simple Dense Fluids. *J. Chem. Phys.* 1980, 72 (5), 2907-2913.
43. Horn, R. G.; Israelachvili, J. N., Direct Measurement of Structural Forces between Two Surfaces in a Nonpolar Liquid. *J. Chem. Phys.* 1981, 75 (3), 1400-1411.

44. Tadmor, R.; Hernandez-Zapata, E.; Chen, N.; Pincus, P.; Israelachvili, J. N., Debye Length and Double-Layer Forces in Polyelectrolyte Solutions. *Macromolecules* 2002, 35 (6), 2380-2388.
45. Hogg, R.; Healy, T.; Fuerstenau, D., Mutual Coagulation of Colloidal Dispersions. *Trans. Faraday Soc.* 1966, 62, 1638-1651.
46. Butt, H.-J., Electrostatic Interaction in Scanning Probe Microscopy when Imaging in Electrolyte Solutions. *Nanotechnology* 1992, 3 (2), 60.
47. Cappella, B.; Dietler, G., Force-Distance Curves by Atomic Force Microscopy. *Surf. Sci. Rep.* 1999, 34 (1-3), 1-104.
48. Hertz, H., Über die Berührung fester elastischer Körper. *J. Reine und Angewandte Mathematik* 1881, 92, 156-71.
49. Johnson, K.; Kendall, K.; Roberts, A., Surface Energy and the Contact of Elastic Solids. *Proc. R. Soc. Lond. A* 1971, 324 (1558), 301-313.
50. Derjaguin, B. V.; Muller, V. M.; Toporov, Y. P., Effect of Contact Deformations on the Adhesion of Particles. *J. Colloid. Interf. Sci.* 1975, 53 (2), 314-326.
51. Maugis, D., Adhesion of Spheres: The JKR-DMT Transition Using a Dugdale Model. *J. Colloid. Interf. Sci.* 1992, 150 (1), 243-269.
52. Gigler, A. Dynamic Investigation of Polymeric Materials: Reproducible Data Acquisition and Profound Mechanical Analysis. Universität Ulm. Fakultät für Naturwissenschaften, 2006.
53. Lin, D. C.; Dimitriadis, E. K.; Horkay, F., Robust Strategies for Automated AFM Force Curve Analysis-I. Non-adhesive Indentation of Soft, Inhomogeneous Materials. *J. Biomed. Eng.* 2006, 129 (3), 430-440.
54. Lin, D. C.; Dimitriadis, E. K.; Horkay, F., Robust Strategies for Automated AFM Force Curve Analysis-II: Adhesion-Influenced Indentation of Soft, Elastic Materials. *J. Dyn. Syst. - T. ASME* 2007, 129 (6), 904.
55. Sneddon, I. N., The Relation between Load and Penetration in the Axisymmetric Boussinesq Problem for a Punch of Arbitrary Profile. *Int. J. Eng. Sci.* 1965, 3 (1), 47-57.
56. Hörning, M.; Kidoaki, S.; Kawano, T.; Yoshikawa, K., Rigidity matching between cells and the extracellular matrix leads to the stabilization of cardiac conduction. *Biophys. J.* 2012, 102 (3), 379-387.
57. Hörning, M.; Kidoaki, S.; Kawano, T.; Yoshikawa, K., Correction. *Biophys. J.* 2013, 104 (9), 2110.
58. Costa, K. D.; Yin, F. C. P., Analysis of Indentation: Implications for Measuring Mechanical Properties With Atomic Force Microscopy. *J. Biomed. Eng.* 1999, 121 (5), 462-471.
59. Bilodeau, G. G., Regular Pyramid Punch Problem. *J. Appl. Mech.* 1992, 59 (3), 519-523.
60. Rico, F.; Roca-Cusachs, P.; Gavara, N.; Farré, R.; Rotger, M.; Navajas, D., Probing Mechanical Properties of Living Cells by Atomic Force Microscopy with Blunted Pyramidal Cantilever Tips. *Phys. Rev. E* 2005, 72 (2), 021914.
61. Maugis, D., *Contact, Adhesion and Rupture of Elastic Solids*. Springer: 2000.
62. Dugdale, D. S., Yielding of Steel Sheets Containing Slits. *J. Mech. Phys. Solids* 1960, 8 (2), 100-104.
63. Kappl, M., *Surface and Interfacial Forces*. John Wiley & Sons: 2009.
64. Eaton, P. J.; West, P., *Atomic Force Microscopy*. Oxford University Press New York: 2010.

65. Sader, J. E.; Larson, I.; Mulvaney, P.; White, L. R., Method for the Calibration of Atomic Force Microscope Cantilevers. *Rev. Sci. Instrum.* 1995, 66 (7), 3789-3798.
66. Sader, J. E. C., J. W. M.; Mulvaney, P. , Calibration of Rectangular Atomic Force Microscope Cantilevers. *Rev. Sci. Instrum.* 1999, 70, 3967-3969.
67. Ogletree, D. F.; Carpick, R. W.; Salmeron, M., Calibration of Frictional Forces in Atomic Force Microscopy. *Rev. Sci. Instrum.* 1996, 67 (9), 3298-3306.
68. Jeon, S.; Braiman, Y.; Thundat, T., Cross Talk between Bending, Twisting, and Buckling Modes of Three Types of Microcantilever Sensors. *Rev. Sci. Instrum.* 2004, 75 (11), 4841-4844.
69. Green, C. P.; Lioe, H.; Cleveland, J. P.; Proksch, R.; Mulvaney, P.; Sader, J. E., Normal and Torsional Spring Constants of Atomic Force Microscope Cantilevers. *Rev. Sci. Instrum.* 2004, 75 (6), 1988-1996.
70. Cannara, R. J.; Eglin, M.; Carpick, R. W., Lateral Force Calibration in Atomic Force Microscopy: A New Lateral Force Calibration Method and General Guidelines for Optimization. *Rev. Sci. Instrum.* 2006, 77 (5).
71. Demtröder, W., *Experimentalphysik I: Mechanik und Wärme*. Springer 2006; Vol. 1.
72. Tamayo, J.; Garcia, R., Deformation, Contact Time, and Phase Contrast in Tapping Mode Scanning Force Microscopy. *Langmuir* 1996, 12, 4430-4435.
73. García, R.; San Paulo, A., Attractive and Repulsive Tip-Sample Interaction Regimes in Tapping-Mode Atomic Force Microscopy. *Phys. Rev. B* 1999, 60 (7), 4961-4967.
74. Cleveland, J. P.; Anczykowski, B.; Schmid, A. E.; Elings, V. B., Energy Dissipation in Tapping-Mode Atomic Force Microscopy. *Appl. Phys. Lett.* 1998, 72 (20), 2613-2615.
75. Dufrene, Y. F.; Martinez-Martin, D.; Medalsy, I.; Alsteens, D.; Muller, D. J., Multiparametric Imaging of Biological Systems by Force-Distance Curve-Based AFM. *Nat. Meth.* 2013, 10 (9), 847-854.
76. Picas, L.; Rico, F.; Scheuring, S., Direct Measurement of the Mechanical Properties of Lipid Phases in Supported Bilayers. *Biophys. J.* 2012, 102 (1), L01-L03.
77. Pletikapić, G.; Berquand, A.; Radić, T. M.; Svetličić, V., Quantitative Nanomechanical Mapping of Marine Diatom In Seawater using Peak Force Tapping Atomic Force Microscopy. *J. Phycol.* 2012, 48 (1), 174-185.
78. Bitler, A.; Dover, R.; Shai, Y., Fractal Properties of Macrophage Membrane Studied by AFM. *Micron* 2012, 43 (12), 1239-1245.
79. Foster, B., New Atomic Force Microscopy (AFM) Approaches Life Sciences Gently, Quantitatively, and Correlatively. *Am. Lab.* 2012, 44 (4), 24.
80. Garcia, R.; Magerle, R.; Perez, R., Nanoscale Compositional Mapping with Gentle Forces. *Nat Mater* 2007, 6 (6), 405-411.
81. Walther, F.; Heckl, W. M.; Stark, R. W., Evaluation of Nanoscale Roughness Measurements on a Plasma Treated SU-8 Polymer Surface by Atomic Force Microscopy. *Appl. Surf. Sci.* 2008, 254 (22), 7290-7295.
82. Rabinovich, Y. I.; Adler, J. J.; Ata, A.; Singh, R. K.; Moudgil, B. M., Adhesion between Nanoscale Rough Surfaces: I. Role of Asperity Geometry. *J. Colloid. Interf. Sci.* 2000, 232 (1), 10-16.
83. Koinkar, V. N.; Bhushan, B., Effect of Scan Size and Surface Roughness on Microscale Friction Measurements. *J. Appl. Phys.* 1997, 81 (6), 2472-2479.

84. Westra, K. L.; Mitchell, A. W.; Thomson, D. J., Tip Artifacts in Atomic Force Microscope Imaging of Thin Film Surfaces. *J. Appl. Phys.* 1993, 74 (5), 3608-3610.
85. Schwarz, U. D.; Haefke, H.; Reimann, P.; GÜNtherodt, H. J., Tip Artefacts in Scanning Force Microscopy. *J. Microsc.* 1994, 173 (3), 183-197.
86. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P., *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science: 2002.
87. Perkins, S. J.; Nealis, A. S.; Sutton, B. J.; Feinstein, A., Solution Structure of Human and Mouse Immunoglobulin M by Synchrotron X-ray Scattering and Molecular Graphics Modelling: A Possible Mechanism for Complement Activation. *J. Mol. Biol.* 1991, 221 (4), 1345-1366.
88. Reuter, P., *Springer Lexikon Medizin*. Springer: 2004.
89. Harris, L. J.; Larson, S. B.; Hasel, K. W.; Day, J.; Greenwood, A.; McPherson, A., The Three-Dimensional Structure of an Intact Monoclonal Antibody for Canine Lymphoma. *Nature* 1992, 360, 369-72.
90. Medalia, O.; Weber, I.; Frangakis, A. S.; Nicastro, D.; Gerisch, G.; Baumeister, W., Macromolecular Architecture in Eukaryotic Cells Visualized by Cryoelectron Tomography. *Science* 2002, 298 (5596), 1209-1213.
91. Abts, G., *Kunststoff-Wissen für Einsteiger*. Hanser: 2010.
92. Elsner, P.; Eyerer, P.; Hirth, T., *Kunststoffe, Eigenschaften und Anwendungen*. Springer, Berlin: 2008.
93. Li, J.; Zhou, C.; Wang, G.; Tao, Y.; Liu, Q.; Li, Y., Isothermal and Nonisothermal Crystallization Kinetics of Elastomeric Polypropylene. *Polym. Test*, 2002, 21 (5), 583-589.
94. Natta, G., Properties of Isotactic, Atactic, and Stereoblock Homopolymers, Random and Block Copolymers of α -olefins. *J. Pol. Sci.* 1959, 34, 531-549.
95. Park, J.; Eom, K.; Kwon, O.; Woo, S., Chemical Etching Technique for the Investigation of Melt-crystallized Isotactic Polypropylene Spherulite and Lamellar Morphology by Scanning Electron Microscopy. *Microsc. Microanal.* 2001, 7 (03), 276-286.
96. Li, L.; Chan, C.-M.; Yeung, K. L.; Li, J.-X.; Ng, K.-M.; Lei, Y., Direct Observation of Growth of Lamellae and Spherulites of a Semicrystalline Polymer by AFM. *Macromolecules* 2001, 34 (2), 316-325.
97. Chien, J. C. W.; Iwamoto, Y.; Rausch, M. D.; Wedler, W.; Winter, H. H., Homogeneous Binary Zirconocenium Catalyst Systems for Propylene Polymerization. 1. Isotactic/Atactic Interfacial Compatibilized Polymers Having Thermoplastic Elastomeric Properties. *Macromolecules* 1997, 30 (12), 3447-3458.
98. Franke, M.; Rehse, N., Nucleation of Branches in Elastomeric Polypropylene. *Polymer* 2008, 49 (20), 4328-4331.
99. Franke, M.; Magerle, R., Locally Auxetic Behavior of Elastomeric Polypropylene on the 100 nm Length Scale. *ACS Nano* 2011, 5 (6), 4886-4891.
100. Michler, G. H.; Godehardt, R., Deformation Mechanisms of Semi-Crystalline Polymers on the Submicron Scale. *Cryst. Res. Technol.* 2000, 35 (6-7), 863-875.
101. Yamada, K.; Matsumoto, S.; Tagashira, K.; Hikosaka, M., Isotacticity Dependence of Spherulitic Morphology of Isotactic Polypropylene. *Polymer* 1998, 39 (22), 5327-5333.
102. Schönherr, H.; Wiyatno, W.; Pople, J.; Frank, C. W.; Fuller, G. G.; Gast, A. P.; Waymouth, R. M., Morphology of Thermoplastic Elastomers: Elastomeric Polypropylene. *Macromolecules* 2002, 35 (7), 2654-2666.

103. van Erp, T. B.; Balzano, L.; Spoelstra, A. B.; Govaert, L. E.; Peters, G. W. M., Quantification of Non-Isothermal, Multi-Phase Crystallization of Isotactic Polypropylene: The Influence of Shear and Pressure. *Polymer* 2012, 53 (25), 5896-5908.
104. Prucker, O.; Naumann, C. A.; Ruhe, J.; Knoll, W.; Frank, C. W., Photochemical Attachment of Polymer Films to Solid Surfaces via Monolayers of Benzophenone Derivatives. *J. Am. Chem. soc.* 1999, 121 (38), 8766-8770.
105. Schuh, C.; Ruhe, J., Penetration of Polymer Brushes by Chemical Nonidentical Free Polymers. *Macromolecules* 2011, 44 (9), 3502-3510.
106. Barbey, R.; Lavanant, L.; Paripovic, D.; Schüwer, N.; Sugnaux, C.; Tugulu, S.; Klok, H.-A., Polymer Brushes via Surface-Initiated Controlled Radical Polymerization: Synthesis, Characterization, Properties, and Applications. *Chem. Rev.* 2009, 109 (11), 5437-5527.
107. Schenderlein, H.; Voss, A.; Stark, R. W.; Biesalski, M., Preparation and Characterization of Light-Switchable Polymer Networks Attached to Solid Substrates. *Langmuir* 2013, 29 (14), 4525-4534.
108. Toomey, R.; Freidank, D.; Ruhe, J., Swelling Behavior of Thin, Surface-Attached Polymer Networks. *Macromolecules* 2004, 37 (3), 882-887.
109. Natta, V. G.; Danusso, F.; Moraglio, G., Über die volumetrische Bestimmung des Kristallinitätsgrades isotaktischer Polystyrole. *Die Makromolekulare Chemie* 1958, 28 (1), 166-172.
110. Lok, K. P.; Ober, C. K., Particle Size Control in Dispersion Polymerization of Polystyrene. *Can. J. Chemistry* 1985, 63 (1), 209-216.
111. Chiodi, F.; Sidén, Å.; Ösby, E., Isoelectric Focusing of Monoclonal Immunoglobulin G, A and M Followed by Detection with the Avidin-Biotin System. *Electrophoresis* 1985, 6 (3), 124-128.
112. Hansma, H. G.; Laney, D. E., DNA Binding to Mica Correlates with Cationic Radius: Assay by Atomic Force Microscopy. *Biophys. J.* 1996, 70 (4), 1933-1939.
113. Pastré, D.; Piétrement, O.; Fusil, S.; Landousy, F.; Jeusset, J.; David, M.-O.; Hamon, L.; Le Cam, E.; Zozime, A., Adsorption of DNA to Mica Mediated by Divalent Counterions: A Theoretical and Experimental Study. *Biophys. J.* 2003, 85 (4), 2507-2518.
114. Petersen, S.; Gattermayer, M.; Biesalski, M., Hold on at the Right Spot: Bioactive Surfaces for the Design of Live-Cell Micropatterns. *Adv. Polym. Sci.* 2011, 240, 35-78.
115. Rehse, N.; Marr, S.; Scherdel, S.; Magerle, R., Three-Dimensional Imaging of Semicrystalline Polypropylene with 10 nm Resolution. *Adv. Mater.* 2005, 17 (18), 2203-2206.
116. Butt, H. J.; Jaschke, M., Calculation of Thermal Noise in Atomic Force Microscopy. *Nanotechnology* 1995, 6 (1), 1.
117. Dongmo, L. S.; Villarrubia, J. S.; Jones, S. N.; Renegar, T. B.; Postek, M. T.; Song, J. F., Experimental Test of Blind Tip Reconstruction for Scanning Probe Microscopy. *Ultramicroscopy* 2000, 85 (3), 141-153.
118. Makky, A.; Berthelot, T.; Feraudet-Tarisse, C.; Volland, H.; Viel, P.; Polesel-Maris, J., Substructures High Resolution Imaging of Individual IgG and IgM Antibodies with Piezoelectric Tuning Fork Atomic Force Microscopy. *Sens. Act. B* 2012, 162 (1), 269-277.

119. Martínez, N. F.; Lozano, J. R.; Herruzo, E. T.; Garcia, F.; Richter, C.; Sulzbach, T.; Garcia, R., Bimodal Atomic Force Microscopy Imaging of Isolated Antibodies in Air and Liquids. *Nanotechnology* 2008, 19 (38), 384011.
120. Munn, E. A.; Bachmann, L.; Feinstein, A., Structure of Hydrated Immunoglobulins and Antigen-Antibody Complexes. *Electron Microscopy of Spray-Freeze-Etched Specimens. BBA - Protein Structure* 1980, 625 (1), 1-9.
121. Knoll, A.; Magerle, R.; Krausch, G., Tapping Mode Atomic Force Microscopy on Polymers: Where is the True Sample Surface? *Macromolecules* 2001, 34 (12), 4159-4165.
122. Villarrubia, J., Algorithm for Scanned Probe Microscope Image Simulation, Surface Reconstruction, and Tip Estimation. *J. Res. Natl. Inst. Stan.* 1997, 102, 425-454.
123. Czajkowsky, D. M.; Shao, Z., The Human IgM Pentamer is a Mushroom-Shaped Molecule with a Flexural Bias. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2009, 106 (35), 14960-14965.
124. Kienberger, F.; Mueller, H.; Pastushenko, V.; Hinterdorfer, P., Following Single Antibody Binding to Purple Membranes in Real Time. *EMBO Rep* 2004, 5 (6), 579-583.
125. Martinez-Martin, D.; Herruzo, E. T.; Dietz, C.; Gomez-Herrero, J.; Garcia, R., Noninvasive Protein Structural Flexibility Mapping by Bimodal Dynamic Force Microscopy. *Phys. Rev. Lett.* 2011, 106 (19), 198101.
126. Wiersma, E. J.; Collins, C.; Fazel, S.; Shulman, M. J., Structural and Functional Analysis of J Chain-Deficient IgM. *J. Immunol.* 1998, 160 (12), 5979-5989.
127. Volpatti, L. R.; Knowles, T. P. J., Polymer Physics Inspired Approaches for the Study of the Mechanical Properties of Amyloid Fibrils. *J. Polymer Sci. B* 2014, 52 (4), 281-292.
128. Domke, J.; Radmacher, M., Measuring the Elastic Properties of Thin Polymer Films with the Atomic Force Microscope. *Langmuir* 1998, 14 (12), 3320-3325.
129. Schönherr, H.; Waymouth, R. M.; Frank, C. W., Nucleation and Crystallization of Low-Crystallinity Polypropylene Followed in Situ by Hot Stage Atomic Force Microscopy. *Macromolecules* 2003, 36 (7), 2412-2418.
130. Gracias, D. H.; Somorjai, G. A., Continuum Force Microscopy Study of the Elastic Modulus, Hardness and Friction of Polyethylene and Polypropylene Surfaces. *Macromolecules* 1998, 31 (4), 1269-1276.
131. Dietz, C.; Zerson, M.; Riesch, C.; Gigler, A. M.; Stark, R. W.; Rehse, N.; Magerle, R., Nanotomography with Enhanced Resolution using Bimodal Atomic Force Microscopy. *Appl. Phys. Lett.* 2008, 92 (14), 143107-3.
132. Sakai, A. T., K.; Fujii, Y.; Nagamura, T.; Kajiyama, T., Structure and Thermal Molecular Motion at Surface of Semi-crystalline Isotactic Polypropylene Films. *Polymer* 2005, 46, 429-437.
133. Boger, A. H., B.; Troll, C.; Marti, O.; Rieger, B., Mechanical and Temperature Dependant Properties, Structure and Phase Transitions of Elastic Polypropylenes. *Eur. Phys. J.* 2007, 43, 634-643.
134. Nielsen, L. E., *Mechanical Properties of Polymers and Composites*. Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994.
135. Rehse, N.; Marr, S.; Scherdel, S.; Magerle, R., Three-Dimensional Imaging of Semicrystalline Polypropylene with 10 nm Resolution. *Adv. Mater.* 2005, 17 (18), 2203-2206.

136. Lee, H. K.; Kim, S. C.; Levon, K., Liquid–Liquid Phase Separation and Crystallization of Polydisperse Isotactic Polypropylene Solutions. *J. Appl. Polym. Sci.* 1998, 70 (5), 849-857.
137. Diehl, C.; Černoch, P.; Zenke, I.; Runge, H.; Pitschke, R.; Hartmann, J.; Tiersch, B.; Schlaad, H., Mechanistic Study of the Phase Separation/Crystallization Process of Poly (2-isopropyl-2-oxazoline) in Hot Water. *Soft Matter* 2010, 6 (16), 3784-3788.
138. Aerts, L.; Kunz, M.; Berghmans, H.; Koningsveld, R., Relation between Phase Behaviour and Morphology in Polyethylene/diphenyl Ether Systems. *Die Makromolekulare Chemie* 1993, 194 (10), 2697-2712.
139. Magill, J. H., Crystallization of Poly-(tetramethyl-p-silphenylene)-siloxane Polymers. *J. Appl. Phys.* 1964, 35, 3249.
140. Wunderlich, B., *Macromolecular Physics*. Academic Press: New York, 1976.
141. Garcia, R. G., C. J.; Martinez, N. F.; Patil, S.; Dietz, C.; Magerle, R. , Identification of Nanoscale Dissipation Processes by Dynamic Atomic Force Microscopy. *Phys. Rev. Lett.* 2006, 97.
142. Carlson, E. D. K., M. T.; Shah, C. D.; Terakawa, T.; Waymouth, R. M.; Fuller, G. G. , Rheological and Thermal Properties of Elastomeric Polypropylene. *Macromolecules* 1998, 31, 5343-5351.
143. Domke, J. Mikromechanische Eigenschaften dünner Polymerfilme und lebender Zellen. Imu, 2001.
144. Tamayo, J.; García, R., Relationship between Phase Shift and Energy Dissipation in Tapping-Mode Scanning Force Microscopy. *Appl. Phys. Lett.* 1998, 73 (20), 2926-2928.
145. Hopcroft, M. A.; Nix, W. D.; Kenny, T. W., What is the Young's Modulus of Silicon? *J. Microelectromech. S.* 2010, 19 (2), 229-238.
146. Petersen, K. E., Silicon as a Mechanical Material. *Proc. IEEE* 1982, 70 (5), 420-457.
147. Bassous, E.; Taub, H. H.; Kuhn, L., Ink Jet Printing Nozzle Arrays Etched in Silicon. *Appl. Phys. Lett.* 1977, 31 (2), 135-137.
148. Zou, M.; Yang, D., Nanoindentation of Silica Nanoparticles Attached to a Silicon Substrate. *Tribol. Lett.* 2006, 22 (2), 189-196.
149. Heim, L.-O.; Blum, J.; Preuss, M.; Butt, H.-J., Adhesion and Friction Forces between Spherical Micrometer-Sized Particles. *Phys. Rev. Lett.* 1999, 83 (16), 3328-3331.
150. Anglin, E. J.; Cheng, L.; Freeman, W. R.; Sailor, M. J., Porous Silicon in Drug Delivery Devices and Materials. *Adv. Drug. Deliver. Rev.* 2008, 60 (11), 1266-1277.
151. Freitas, A. M.; Sharma, M. M., Detachment of Particles from Surfaces: An AFM Study. *J. Colloid. Interf. Sci.* 2001, 233 (1), 73-82.
152. Freitas, A. M.; Sharma, M. M., Effect of Surface Hydrophobicity on the Hydrodynamic Detachment of Particles from Surfaces. *Langmuir* 1999, 15 (7), 2466-2476.
153. Butt, H. J., Measuring Electrostatic, Van der Waals, and Hydration Forces in Electrolyte Solutions with an Atomic Force Microscope. *Biophys. J.* 1991, 60 (6), 1438-44.
154. Parker, J. L.; Claesson, P. M., Forces between Hydrophobic Silanated Glass Surfaces. *Langmuir* 1994, 10 (3), 635-639.

155. Rabinovich, Y. I.; Yoon, R. H., Use of Atomic Force Microscope for the Measurements of Hydrophobic Forces between Silanated Silica Plate and Glass Sphere. *Langmuir* 1994, 10 (6), 1903-1909.
156. Tsukruk, V. V.; Bliznyuk, V. N., Adhesive and Friction Forces between Chemically Modified Silicon and Silicon Nitride Surfaces. *Langmuir* 1998, 14 (2), 446-455.
157. Taran, E.; Kanda, Y.; Vakarelski, I. U.; Higashitani, K., Nonlinear Friction Characteristics between Silica Surfaces in High pH Solution. *J. Colloid. Interf. Sci.* 2007, 307 (2), 425-432.
158. Taran, E.; Donose, B. C.; Vakarelski, I. U.; Higashitani, K., pH Dependence of Friction Forces between Silica Surfaces in Solutions. *J. Colloid. Interf. Sci.* 2006, 297 (1), 199-203.
159. Marti, A.; Haehner, G.; Spencer, N. D., Sensitivity of Frictional Forces to pH on a Nanometer Scale: A Lateral Force Microscopy Study. *Langmuir* 1995, 11 (12), 4632-4635.

Danksagung

„Keine Schuld ist dringender als die, Danke zu sagen“

Marcus Tullius Cicero (106-43)

Es ist mir eine Freude, mich bei vielen wundervollen Menschen bedanken zu können, ohne die diese Arbeit in der vorliegenden Form wohl kaum zustande gekommen wäre.

Zu Beginn möchte ich mich bei Prof. Robert Stark für die Möglichkeit bedanken, diese Arbeit in seiner Arbeitsgruppe durchführen zu können. Besonders hervorheben möchte ich seine gute Betreuung und die vielen positiven und lehrreichen Erfahrungen, die ich während meiner Promotion sammeln durfte.

Für die tatkräftige experimentelle Unterstützung, die vielen aufschlussreichen Diskussionen und das gründliche Korrekturlesen meiner Arbeit möchte ich mich herzlich bei Dr. Christian Dietz bedanken. Außerdem danke ich ihm und Dr. Kim Phuong Lieu für die gemeinsamen SEM-Messungen sowie für die unvergessliche gemeinsame Zeit im besten Büro aller Zeiten.

Für die Übernahme des zweiten Gutachtens und für die gute Zusammenarbeit möchte ich mich an dieser Stelle auch bei Prof. Markus Biesalski bedanken. In diesem Zusammenhang gilt mein Dank außerdem seiner Arbeitsgruppe, insbesondere Dr. Sönke Petersen und Dr. Helge Schenderlein für die Zusammenarbeit bei der Herstellung der bioaktiven Peptid-Polymer Proben und den Ellipsometrie-Messungen.

Dr. Lars-Oliver Heim danke ich für die Zusammenarbeit bei der Herstellung von kolloidalen Messsonden, die in den Adhäsions- und Reibungskraft-Messungen verwendet wurden.

Bei Prof. Robert Magerle, Dr. Eike-Christian Spitzner und Martin Neumann von der Technischen Universität Chemnitz bedanke ich mich für die Bereitstellung der Polypropylen-Lösung und für die aufschlussreichen Diskussionen.

Den Verantwortlichen der Firma Lam Research (Villach, Österreich) danke ich für die Zusammenarbeit in einem spannenden Industrieprojekt und die Möglichkeit, an internationalen Projektmeetings teilnehmen zu können.

Dr. Marek Janko gilt mein Dank für die Einführung in die Rasterkraftmikroskopie und die gemeinsame Zeit.

Für die gute Atmosphäre und die interessanten Gespräche möchte ich mich des Weiteren bei Simon Schiwiek, Marcus Schulze, Na Liu, Elke Kämmerer, Assma Siddique, Silke Dittombée, Limor Zemel und Jonas Müller bedanken.

Außerdem möchte ich den vielen Helfern danken, die ihre Zeit aufgewandt haben, um diese Arbeit sprachlich und inhaltlich aufzuwerten. Ganz besonders danke ich dabei Hil-

Danksagung

degard Plath, die, trotz allem, diese Arbeit soweit korrigiert hat, wie es ihr möglich war. Sie wurde unterstützt von Ulrike Voss, Franz-Josef Peter, Dr. Marek Janko, Dr. Florian Loyal, Andreas Bullert und Wiebke Hinrichs.

Für die Möglichkeit in Deutschland Physik zu studieren, danke ich meiner Schwester Anna Milczynski und ihrer Familie.

Moim rodzicom Katarzynie i Jackowi Dorobek dziękuję za cierpliwość, wyrozumiałość i za wsparcie, a przede wszystkim za to, że pozwolili mi na takiego człowieka wyrosnąć jakim teraz jestem.

Am Ende möchte ich einer besonders wichtigen Person in meinem Leben danken. Meinem Mann Björn danke ich dafür, dass er mich unterstützt, mir vertraut, an mich glaubt und mein bester Freund ist. Ohne ihn wäre ich nicht, wo ich jetzt bin, und ohne ihn wäre ich nicht die Person, die ich bin. Ich danke Dir.

Lebenslauf

Agnieszka Maria Voß (geb. Dorobek)

geboren in Malbork

09/97 – 06/01	Henryk Sienkiewicz Lyzeum, Malbork (Poland)
07/01 – 09/02	Deutsch als Fremdsprache an der Volkshochschule Heidelberg e.V., Heidelberg
08/02 – 11/09	Diplom (Physik) an der Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg
08/09 – 02/10	Praktikum bei der Daimler AG, Mannheim
08/10 – heute	Promotion im Fachgebiet Material- und Geowissenschaften an der technischen Universität Darmstadt

Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge

1. A. Voss, R.W. Stark, C. Dietz, „Surface versus Volume Properties on the Nanoscale: Elastomeric Polypropylene." *Macromolecules* **2014**, 47, 5236–5245;
2. A. Voss, C. Dietz, R.W. Stark, „Quantitative Measurement of the Mechanical Properties of Human Antibodies with sub-10-nm Resolution in a Liquid Environment" *Nano Research* **2015**, 1-10;
3. H. Schenderlein, A. Voss, R.W. Stark, M. Biesalski, „Preparation and Characterization of Surface-Attached Hydrogels Carrying Light Responsive Spiropyran Functions.“ *Langmuir* **2013**, 29, 4525-4534;
4. C. Dietz, M. Schulze, A. Voss, C. Riesch, R. W. Stark, „Bimodal Frequency-Modulated Atomic Force Microscopy with Small Cantilevers.“ *Nanoscale* **2015**, 7, 1849-1856;
5. C. Dietz, A. Voss, M. Schulze, R.W. Stark, “Surface and Volume Properties of Elastomeric Polypropylene Studied with Enhanced Atomic Force Microscopy Methods.”, Multifrequency AFM Conference **2014**, Madrid, Spanien;
6. A. Voss, C. Dietz, R.W. Stark, „Quantitative Measurement of the Nanomechanical Properties of Bio- and Polymer-Materials“ 5th International Workshop on Advanced Scanning Microscopy Techniques **2014**, Karlsruhe;
7. A. Voss, C. Dietz, R.W. Stark, „Surface Properties of Elastomeric Polypropylene Studied with Enhanced Atomic Force Microscopy Methods.“ MRS Spring Meeting & Exhibit **2013**, Moscone West, San Francisco, USA;
8. A. Voss, C. Dietz, S. Petersen, M. Biesalski, R.W. Stark, „Quantitative Characterization of Structured Bioactive Peptide-Polymer Surfaces Using PeakForce QNM in a Dry and a Liquid Environment.“ 3th International Workshop on Advanced Scanning Microscopy Techniques **2012**, Karlsruhe;
9. A. Voss, S. Petersen, M. Biesalski, R.W. Stark, „Bioactive Polymer-Peptide Surfaces.“ Center of Smart Interfaces, Neujahrsvollversammlung **2011**, Darmstadt;
10. A. Voss, S. Petersen, M. Biesalski, R.W. Stark, „Bioactive Polymer-Peptide Surfaces.“ Center of Smart Interfaces, Neujahrsvollversammlung **2010**, Darmstadt;

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Von mir wurde noch kein Promotionsversuch unternommen.

Darmstadt, den

(Agnieszka Maria Voß)